Liviu Roman Octavian Bârzu

IMPLICAȚII BIOMEDICALE ALE COMBINAȚIILOR COMPLEXE



Dacia

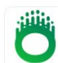
ÎN SERIA „BIBLIOTECA FARMACISTULUI" AU APĂRUT:

Structură chimică. Activitate biologică de I. Simiti, I. Schwartz
Introducere în biofarmacie de S. E. Leucuța
Metabolismul medicamentelor de Dan D. Bedeleanu, Mihai Kory
Receptorii farmacologici de S. Pop, B. Cuparencu, Tereza Bârzu, M. Kory, L. Safta

VOR MAI APĂREA:

Structură chimică — biodisponibilitate
Farmacocinetică

LIVIU ROMAN • OCTAVIAN BÂRZU



IMPLICAȚII BIOMEDICALE ALE COMBINAȚIILOR COMPLEXE

EDITURA DACIA
CLUJ-NAPOCA, 1979

TABLA DE MATERII

INTRODUCERE

Combinațiile complexe ocupă în ultima vreme, un loc central în preocupările a numeroși cercetători. Se acordă atenție cu deosebire complecșilor chelați, implicați direct în procesele biomedicale.

Date privitoare la capacitatea cationilor de a forma complecși (mai ales a cationilor metalelor tranziționale) precum și date privind capacitatea de complexare a liganzilor cu referiri la diversele tipuri de liganzi, inclusiv biologic activi, în funcție de atomii donori pe care-i conțin (de oxigen, azot, sulf etc.), la stabilitatea complecșilor și legat de aceasta, la mascarea și demascarea reacțiilor și a reactivității, constituie fondul primei părți a lucrării. Toate aceste date servesc la înțelegerea rolului biologic și a importanței, inclusiv terapeutice, a ionilor metalici, a unor complecși naturali sau sintetici ai acestora.

De remarcat că numeroși chelați sintetici servesc ca modele pentru investigarea structurii, a mecanismelor de acțiune și, în general, a rolului biologic al chelaților naturali, a căror structură este de regulă foarte complicată. Sînt prezentate în acest context date privitoare la rolul complecșilor în mecanismul de acțiune a enzimelor, prin condiționarea structurii lor tridimensionale, sau prin interacțiunea ionilor metalici cu substratele, precum și în fenomenele de transport activ prin membrane biologice etc.

O altă parte a lucrării se referă la toxicitatea unor ioni metalici și, legat de aceasta, la aplicațiile medicale ale mascării, la utilizarea unor liganzi ca antidoturi etc. Trebuie avut însă în vedere că unele dintre aceste antidoturi pot produce numeroase și adesea grave reacții adverse. Spre exemplu tratamentul cu D-penicilamină, indicat în boala lui Wil-

son, însoțit de rezultate foarte bune, poate produce diverse tipuri de reacții adverse, hematologice, autoimune, neurologice, renale, dermatologice etc.

În sfîrșit, în lucrare se menționează unele medicamente ce conțin ca substanțe terapeutic active, combinații complexe ale unor metale.

Lucrarea, avînd caracter de informare, se adresează farmaciștilor, medicilor, biologilor, chimiștilor și biochimiștilor, unor cadre didactice din domeniile farmaciei, medicinii, biologiei și studenților ce urmează aceste discipline.

Autorii își exprimă gratitudinea față de Editura Dacia, față de tov. redactor Felicia Teodor, pentru înțelegerea și sprijinul acordat.

Autorii

CAPITOLUL 1

GENERALITĂŢI PRIVITOARE LA IMPLICAŢIILE BIOMEDICALE ALE COMPLECŞILOR

Numeroşi ioni metalici îndeplinesc în organismele vii anumite funcţii importante, sau au asupra acestora diferite acţiuni. În general, este puţin cunoscut faptul că ionii metalici se găsesc în organismele vii, sau acţionează în cadrul acestora sub formă de complecşi sau prin formare de complecşi, de regulă chelaţi, în care ionul generator de complex este implicat în formarea unor cicluri chelate. Participarea ionilor metalici la procesele biologice constă în contribuţia lor la formarea şi ruperea legăturilor chimice, la transferul de sarcină şi de oxigen, la fixarea azotului, în fotosinteză, la menţinerea balanţei osmotice în sistemele multifazice, la reacţiile enzimatice [1, 2] etc.

Rolul specific ca şi selectivitatea ionilor metalici, sînt determinate de capacitatea lor de a forma complecşi şi solvaţi, însuşiri asociate unor modificări foarte fine ale potenţialului electrochimic. Dealtfel, se ştie că în ţesuturile animale şi vegetale există numeroase specii chimice chelatoformatoare, adică substanţe capabile de a forma cu ionii metalici complecşi chelaţi. Dintre aceste specii se pot aminti aminoacizii, peptidele, proteinele, acizii carboxilici, fosfaţii etc.

Deoarece complecşii unui ion metalic cu diferiţi liganzi se deosebesc prin stabilitatea lor, se înţelege că în ţesuturile vii are loc o veritabilă competiţie între speciile complexante, faţă de ionii metalici. Este evident că în această competiţie se formează întodeauna complexul cel mai stabil. Dintre complecşii chelaţi, cei mai importanţi sînt cei ai metalelor tranziţionale, deoarece aceştia sînt implicaţi într-o mai mare măsură în procesele biologice.

Pentru formarea acestor complecşi, ionii metalici (iar în unele cazuri moleculele care-i conţin) trebuie să străbată bariera ce înconjoară fiecare ţesut. Capacitatea de a străbate această barieră depinde, în mare măsură, de ionul sau moleculele în cauză. De regulă, moleculele neutre (de exemplu BAL) trec mai uşor această barieră decît ionii, (de exemplu $EDTA^{2-}$).

Cunoaşterea implicaţiilor biomedicale a combinaţiilor complexe, şi mai ales ale chelaţilor metalici, este strîns legată de dez-

voltarea bioanorganicii. Bioanorganica este o știință de graniță, relativ nouă, care se bazează în mare măsură pe cele mai noi date ale fizicii, chimiei (mai ales a celei coordinative) și corelează cunoștințe de chimie anorganică, organică, biochimie, biologie etc.

Bioanorganica se ocupă prin urmare cu studiul complex al ionilor metalici în organismele vii, cu modul lor de acțiune, ceea ce implică cunoașterea naturii legăturilor chimice ale acestora cu liganzii biologici. Totodată bioanorganica studiază și unii complecși metalici artificiali care pot servi ca modele pentru sistemele biologice naturale, [3,4], modele prin care se caută a se desluși complexitatea acțiunilor la care participă complecșii naturali în cadrul proceselor ce au loc în organismele vii.

Dacă, în general, numeroșii ioni metalici îndeplinesc roluri importante în organismele vii, trebuie subliniat că depășirea limitelor lor fiziologice normale de concentrație, determină intoxicații (otrăviri), adesea grave, care afectează considerabil procesele metabolice. Intoxicațiile cu metale grele se tratează cu ajutorul unor agenți chelatanți, care trebuie să aibă o mare afinitate față de ionii metalici incriminați, pentru a forma cu aceștia chelați mai stabili, decît chelații lor cu liganzii biologici. Pe de altă parte, terapia intoxicațiilor cu metale grele trebuie să conducă la formarea unor chelați cît mai solubili în apă (deci și în medii biologice), pentru a putea fi transportați în organism și excretați prin rinichi. În sfîrșit, chelații formați de agenții chelatanți terapeutic activi, trebuie să aibă o toxicitate cît mai redusă.

Un alt domeniu în care intervin chelații metalici, este acela al terapiei antimicrobiene, care se bazează pe aptitudinea unor substanțe medicamentoase (de exemplu, cu nucleu chinolinic, tiosemicarbazide, tiosemicarbazone, antibiotice etc) de a fixa unii ioni metalici esențiali pentru bacterii cum sînt Fe(II), Cu(II), Mg(II) etc. Acțiunea diuretică și antidepresivă a unor substanțe medicamentoase (ca acetazolamida și derivații săi, respectiv derivații de hidrazină), se explică prin capacitatea acestora de a complexa prin chelatare unii ioni metalici. Așa, de exemplu, diureticele chelatează ionul Zn(II) din anhidraza carbonică, iar antidepresivele chelatează ionul Cu(II) din monoaminoxidază.

Însă, trebuie avut în vedere că terapia prin chelatare, poate duce la o scădere a concentrației ionilor metalici sub limitele fiziologice normale, ceea ce determină dereglări considerabile ale proceselor biologice normale, ca urmare a scăderii activității enzimatice (exemplu, anemia feriprivă).

Pe de altă parte, în cazul deficitului de ioni metalici consecutiv unor cauze patologice, se impune terapia prin aport de

metale esențiale Administrarea microelementelor esențiale se face sub forma unor chelați solubili, a căror structură și stabilitate au o însemnătate deosebită. Stabilitatea acestor chelați trebuie să aibă valori cuprinse între limite bine determinate, pentru-ca ei să poată fi condiționați în forme farmaceutice (deci stabilitatea lor trebuie să fie suficient de mare pentru aceasta) și să poată ceda ionii metalici receptorilor specifici din organism (deci, din acest punct de vedere, stabilitatea chelaților trebuie să fie suficient de mică).

Unii chelați metalici sînt liposolubili, ceea ce ușurează trecerea lor prin membrane, determinînd o eficiență mai mare a terapiei cu microelemente esențiale. În general, chelații metalici au acțiuni specifice, care depind de o serie de factori, cum sînt dimensiunile, conformația spațială (izomeria geometrică, impedimente sterice etc), distribuția sarcinilor electrice, potențialul redox, pH etc. Așa de exemplu dintre izomerii geometrici ai unor complecși ai platinei, numai cei cu structură cis au acțiune antibacteriană, antivirală și citostatică. Acest fapt ridică numeroase probleme privitoare la obținerea unor astfel de izomeri. Pe de altă parte, se știe că între substanțele medicamentoase și celelalte substanțe (mai ales cele macromoleculare) utilizate la condiționarea în forme farmaceutice, au loc interacțiuni care adesea constau în formarea unor combinații complexe, mai ales de incluziune [5].

Avînd în vedere numeroasele implicații și aplicații ale combinațiilor complexe (mai ales a celor chelate) în domeniul biomedical, se impune cunoașterea unor probleme privitoare la natura lor, stabilitatea lor, la factorii ce guvernează formarea și stabilitatea lor, la posibilitățile de mascare (adică de impiedicare a unor reacții) și de demascare (adică de eliberare a unui ion metalic dintr-un complex), pentru a înțelege modul lor de acțiune în procesele biologice.

BIBLIOGRAFIE

1. Jezowska-Trzebiatowska, B., Pure and Applied Chem., 38, 3, 367, 1974.
2. Perrin, D. D., *Masking and Demasking of chemical reactions*, Interscience New York, London, Sydney, Toronto, 1970.
3. Perrin, D. D., Nature, 206, 170, 1965.
4. Perrin, D. D., Sayce, I. G., Talanta, 14, 833, 1967.
5. Grecu, I., Curea E., *Interacțiuni între substanțe macromoleculare și medicamentoase*, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1976.

CAPITOLUL 2

COMBINAȚII COMPLEXE CHELATE

În general, combinațiile chimice se împart în combinații de ordinul I, în care coeficienții atomici ai elementelor componente sînt determinați de valența lor (exemplu NaCl, H_2O, NH_3, H_2S etc), și combinații de ordin superior sau complexe, în care raportul de combinare a componenților nu mai corespunde valențelor normale ale acestora [1].

Combinațiile complexe sînt foarte numeroase și variate, datorită pe de o parte numărului mare de cationi generatori de complecși, iar pe de altă parte, datorită numărului mare de liganzi (reactivi, coordinați) anorganici, dar mai ales organici. De aceea o clasificare riguroasă a complecșilor trebuie să țină seama de natura ionului metalic generator de complex, de natura liganzilor, de posibilitatea formării complecșilor micști, de structura chimică și spațială a complecșilor, de stabilitate, respectiv de reactivitatea complecșilor, de influența diferiților factori asupra stabilității lor (pH, ioni sau liganzi perturbatori, temperatură etc). În plus, la complecșii pe care-i formează ionii metalici cu diferitele tipuri de liganzi, se adaugă alte clase de complecși, cum sînt cei macromoleculari, de incluziune etc. Avînd în vedere multitudinea de factori de care trebuie să se țină seama, este firească marea varietate de grupe de complecși. Se poate totuși face o clasificare mai generală a acestora în complecși metalici, complecși moleculari și de incluziune și complecși de schimb ionic [2].

La rîndul lor, complecșii metalici cuprind complecșii cationici (exemplu $Cu(NH_3)_4^{2+}$), anionici (exemplu $Cu(CN)_4^{3-}$), complecși chelați, complecși ai metalelor tranziționale cu alchene ciclice sau aciclice de tip sandwich [3,4,5,6] etc. Din punct de vedere biomedical, implicații deosebite au complecșii chelați pe care-i formează ionii metalici ai metalelor tranziționale sau reprezentative, cu liganzi bi sau polidentați, și care au structură ciclică. La rîndul lor, chelații pot fi complecși interni electroliți și neelectroliți și complecși chelați propriu-ziși (fig. 2. I, 2. II, 2. III).

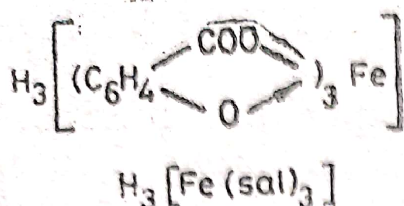


Fig. 2.I. Complex intern electrolit

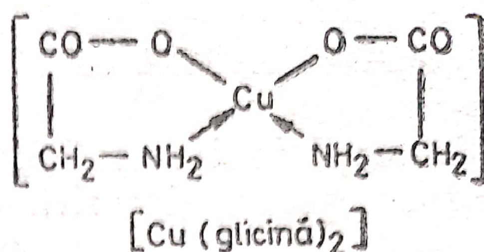


Fig. 2.II. Complex intern neelectrolit

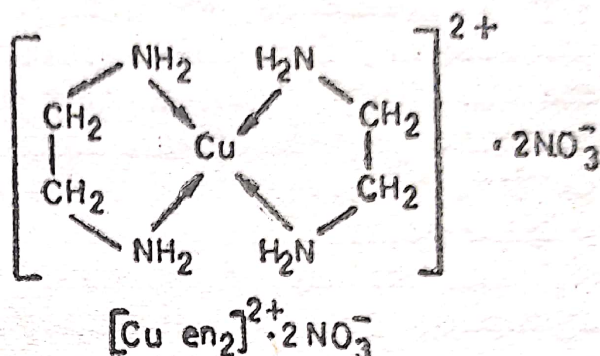


Fig. 2.III. Chelat propriu-zis.

Din aceste exemple rezultă că în cazul complecșilor interni electroliți, există o sferă de coordinare ($Fe\ (sal)_3^{3-}$) și o sferă de ionizare ($3\ H^+$), prin urmare în soluție acești complecși disociază în ioni, ca orice electrolit, și conduc curentul electric. Complecșii interni neelectroliți au numai o sferă de coordinare și nu conduc curentul electric. Complecșii interni electroliți și neelectroliți se formează prin legături normale (sau prin valențe principale) și prin legături coordinative (donor-acceptor), în timp ce chelații propriu-ziși se formează numai prin legături coordinative. Aceștia din urmă au și ei o sferă de coordinare (exemplu $Cuen_2^{2+}$) și alta de ionizare ($2NO_3^-$).

Majoritatea problemelor ce se discută în continuare se referă la complecșii chelați, avînd în vedere că principala direcție de cercetare a complecșilor o constituie aplicarea liganzilor organici selectivi, specifici și foarte sensibili, la identificarea și determinarea cantitativă a ionilor metalici, inclusiv din medii biologice. Pe de altă parte, terapia cu microelemente esențiale se face sub forma unor complecși chelați ai acestora. De asemenea, terapia intoxicațiilor cu metale grele se realizează tot cu liganzi organici, care formează, prin chelatare, complecși mai stabili decît complecșii cu liganzi anorganici și mai puțin toxici. Pentru a ilustra marea sensibilitate a liganzilor organici, este suficient un singur exemplu. Astfel, limita de detecție a ionului Cu(II) cu sulfură este de 1 μg într-o diluție de 1 : 5.000.000, iar cu acid rubeanic (ditiooxamida) de 0,006 μg la o diluție de 1 : 2.500.000 [7]. În sfîrșit, o problemă actuală, referitoare la combinațiile complexe, este aceea a formării complecșilor micști, datorită selectivității lor foarte mari.

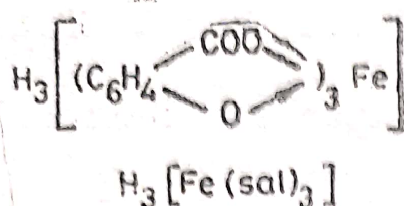


Fig. 2.I. Complex intern electrolit

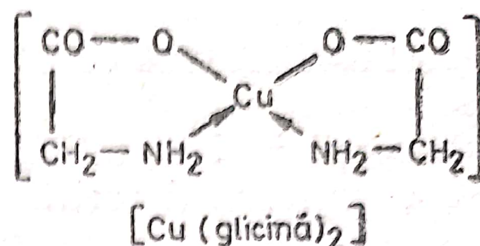


Fig. 2.II. Complex intern neelectrolit

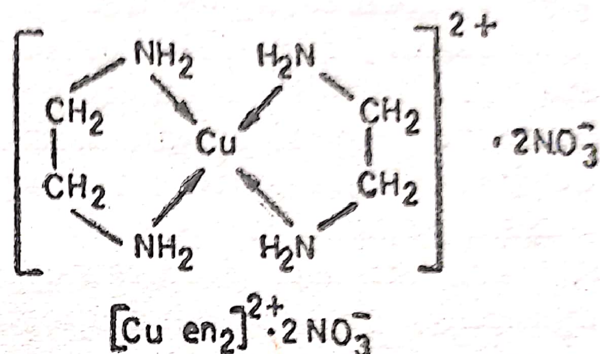


Fig. 2.III. Chelat propriu-zis.

Din aceste exemple rezultă că în cazul complecșilor interni electroliți, există o sferă de coordinare (Fe $(sal)_3^{3-}$) și o sferă de ionizare (3 H^+), prin urmare în soluție acești complecși disociază în ioni, ca orice electrolit, și conduc curentul electric. Complecșii interni neelectroliți au numai o sferă de coordinare și nu conduc curentul electric. Complecșii interni electroliți și neelectroliți se formează prin legături normale (sau prin valențe principale) și prin legături coordinative (donor-acceptor), în timp ce chelații propriu-ziși se formează numai prin legături coordinative. Aceștia din urmă au și ei o sferă de coordinare (exemplu $Cuen_2^{2+}$) și alta de ionizare ($2NO_3^-$).

Majoritatea problemelor ce se discută în continuare se referă la complecșii chelați, avînd în vedere că principala direcție de cercetare a complecșilor o constituie aplicarea liganzilor organici selectivi, specifici și foarte sensibili, la identificarea și determinarea cantitativă a ionilor metalici, inclusiv din medii biologice. Pe de altă parte, terapia cu microelemente esențiale se face sub forma unor complecși chelați ai acestora. De asemenea, terapia intoxicațiilor cu metale grele se realizează tot cu liganzi organici, care formează, prin chelatare, complecși mai stabili decît complecșii cu liganzi anorganici și mai puțin toxici. Pentru a ilustra marea sensibilitate a liganzilor organici, este suficient un singur exemplu. Astfel, limita de detecție a ionului Cu(II) cu sulfură este de 1 μg într-o diluție de 1 : 5.000.000, iar cu acid rubeanic (ditiooxamida) de 0,006 μg la o diluție de 1 : 2.500.000 [7]. În sfîrșit, o problemă actuală, referitoare la combinațiile complexe, este aceea a formării complecșilor micști, datorită selectivității lor foarte mari.



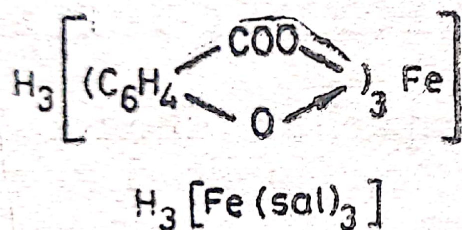


Fig. 2.I. Complex intern electrolit

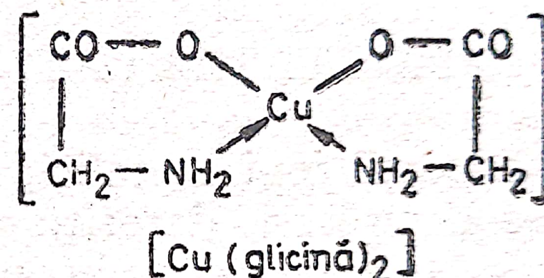


Fig. 2.II. Complex intern neelectrolit

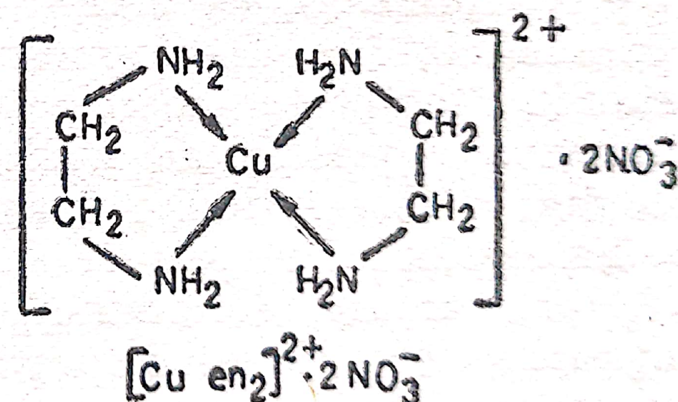


Fig. 2.III. Chelat propriu-zis.

Din aceste exemple rezultă că în cazul complecșilor interni electroliți, există o sferă de coordinare (Fe $(sal)_3^{3-}$) și o sferă de ionizare (3 H^+), prin urmare în soluție acești complecși disociază în ioni, ca orice electrolit, și conduc curentul electric. Complecșii interni neelectroliți au numai o sferă de coordinare și nu conduc curentul electric. Complecșii interni electroliți și neelectroliți se formează prin legături normale (sau prin valențe principale) și prin legături coordinative (donor-acceptor), în timp ce chelații propriu-ziși se formează numai prin legături coordinative. Aceștia din urmă au și ei o sferă de coordinare (exemplu $Cuen_2^{2+}$) și alta de ionizare ($2NO_3^-$).

Majoritatea problemelor ce se discută în continuare se referă

2.1. CAPACITATEA CATIONILOR DE A FORMA COMPLECȘI

Diverșii ioni metalici, manifestă o capacitate diferită de a forma complecși, datorită numeroșilor factori implicați în acest proces. Așa, de exemplu, pare greu de înțeles, la prima vedere, de ce Al(III) formează cu anionul F^- un complex stabil, iar Hg(II) formează, cu același anion, un complex foarte instabil. În schimb, Hg (II) formează cu anionul I^- complecși foarte stabili. Stabilitatea combinațiilor complexe este determinată de anumite proprietăți ale ionilor metalici și ale liganzilor, de care depind și interacțiunile dintre ei [8].

Este știut că forțele de valență sînt de natură electrostatică și, prin urmare, dimensiunile și sarcinile ionilor metalici și ale liganzilor sînt factori importanți în procesul de formare a complecșilor. Dacă ligandul este o moleculă neutră, dipolmomentul său are o importanță mare, preponderentă pentru formarea complecșilor (respectiv pentru puterea de complexare a ligandului). Însă, formarea unui complex nu se poate limita numai la simpla atracție între cationi și liganzi, ci trebuie să se țină seama de modificarea structurii electronice a acestora sub acțiunea cîmpurilor electrice reciproce, sau a altor cîmpuri electrice. Deci trebuie să se țină seama de acțiunea deformantă (polarizantă) și de deformabilitatea (polarizabilitatea) cationilor (care crește cu numărul electronilor din substraturi), ca și de deformabilitatea liganzilor, care crește cu scăderea sarcinii. Pentru explicarea interacțiunilor cation-ligand la formarea combinațiilor complexe, ca și a naturii legăturilor ce se formează, s-au emis diferite ipoteze și teorii [9—14] (începînd cu teoria electrostatică a valenței, cu diversele sale reprezentări, și continuînd cu teoriile cuantice ale legăturii covalente, adică teoria legăturii de valență, a cîmpului cristalin și orbitalelor moleculare, pe care se bazează teoria cîmpului liganzilor). Prin urmare, numeroase probleme privitoare la formarea și stabilitatea complecșilor, mult timp rămase neclare, au putut primi un răspuns corect prin aplicarea teoriei cîmpului cristalin, ce cuprinde și tratează și noțiunea modernă a legăturii [8].

2.1.1. Clasificarea cationilor după Schwarzenbach

După Schwarzenbach [15], cationii se pot împărți, după capacitatea lor de a forma complecși, în trei grupe: cu configurație de gaz rar, cu substraturi d complete și substraturi d incomplete.

A. *Cationi cu structură de gaz rar* (*inert*). Din această grupă fac parte ionii metalelor alcaline (gr.IA), alcalino-pămîntoase (gr. IIA) și aluminiul, care au structura electronică a învelișului exterior de 2 e$^-$ (litiu, beriliu, bor) sau 8 e$^-$, în restul cazurilor. Acești ioni sînt polarizanți slabi, puțin polarizabili, prin urmare formează puțini complecși a căror stabilitate este redusă. În cazul acestor ioni predomină forțele pur electrostatice. Ionii alcalini mici (de sodiu și potasiu) formează unii complecși labili cu liganzi chelatanți cu sarcină și dimensiuni mari, cum sînt EDTA, oxina etc. În schimb, ionii alcalini mari , cum sînt cei ai K, Rb, Cs, există în soluție sub formă de hidrați stabili, și practic nu mai formează alți complecși. Cationii metalelor alcalino-pămîntoase manifestă o tendință mai mare de a forma complecși, aceasta descrescînd cu numărul atomic (respectiv cu creșterea razei ionice). Capacitatea de coordinare crește odată cu sarcina. Așa se explică stabilitatea mai mare a complecșilor anionici AlF_4^- și $Al(OH)_4^-$.

B. *Cationi cu substraturi d complete*. Din această grupă fac parte ionii Cu(I), Ag(I), Au(I) (grupa IB), Zn(II), Cd(II), Hg(II) (grupa IIB) etc. Acești cationi sînt mult mai polarizanți și mai polarizabili decît cei din grupa A, de aceea, în complecșii lor, legăturile au un caracter predominant covalent. În cazul acestor cationi, factorul predominant în procesul de complexare îl are diferența de electronegativitate dintre ionii metalici și atomul donor de electroni al ligandului (și nu sarcina și raza ionică a cationului, ca în cazul cationilor grupei A). Prin urmare, forța legăturii metal-ligand este cu atît mai puternică, cu cît cationul acceptă mai ușor, iar atomul donor cedează mai ușor electroni. Complecșii acestor ioni sînt deci cu atît mai stabili cu cît metalul este mai puțin electropozitiv, mai nobil, iar atomul donor al ligandului mai puțin electronegativ. Tendința liganzilor de a coordina cu acești cationi depinde de atomul donor, descrescînd în ordinea $C > N > O > F$. De aci rezultă că acești cationi coordinează mai ușor cu amoniacul decît cu apa, sau cu cianuri, decît cu OH^-. Acești cationi formează complecși stabili și cu liganzi cu sulf și chiar cu fosfor, complecșii fiind însă greu solubili în apă și de regulă colorați.

C. *Cationi cu substraturi d incomplete*. În această grupă se încadrează ionii metalelor tranziționale și prezintă cea mai mare însemnătate. Acești cationi prezintă cele două tendințe ale grupelor A și B, predominanța uneia sau alteia dintre ele, depinzînd, în mod hotărîtor, de sarcina, volumul și potențialul de ionizare. De exemplu, în seria cationilor bivalenți ai Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn (ultimul luat pentru comparație), raza ionică și

potențialul de ionizare scad pînă la cupru, prin urmare stabilitatea lor crește progresiv, fiind maximă la cupru. Aceste comportări au fost observate de Irving și Williams [16], de aceea seria acestor cationi bivalenți poartă numele de seria lui Irving-Williams. Cationii acestei serii au o mare tendință de a se complexa cu liganzi ce au atomi donori de azot, carbon sau sulf și mai mică cu liganzi cu oxigen. Rezultă că ionul Cu (II) se aseamănă mai mult cu cationii grupei B, în timp ce Mn (II) cu cei ai grupei A.

Comportări similare au și ceilalți ioni ai metalelor tranziționale, stabilitatea complecșilor analogi crescînd de la prima serie, la cea de a treia serie. Spre exemplu, mulți complecși ai Pd (II) (seria II-a) sînt mai stabili decît complecșii similari ai Ni (II) (seria I-a), dar mai puțin stabili decît cei ai Pt (II) (seria III-a).

Pentru definirea sau aprecierea tendinței cationilor de a forma complecși, se poate utiliza comportarea lor față de ionii de halogenură, așa cum a propus Ahrland [17]. Elementele, ai căror ioni se combină mai ușor cu ionul I^- decît cu F^-, formează pe sistemul periodic un triunghi cu vîrful la cupru, iar baza se întinde de la reniu la bismut ; tabelul 2.1.

TABEL 2.1

Clasificarea metalelor după tendința de complexare cu halogenuri.

Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As
Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb
W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi

Ionii elementelor situate în afara triunghiului, formează complecși a căror stabilitate scade în ordinea F > Cl > Br > I.

Limita din stînga acestui triunghi se pare că nu este totuși bine definită, deoarece comportarea ionilor metalici depinde mult de valența lor. Pe de altă parte, este de remarcat că asemenea aprecieri a tendinței cationilor de a forma complecși, se pot face și cu referire la alți liganzi, într-un mod asemănător cazului comportării cationilor față de halogenuri. De asemenea trebuie precizat că există și unele excepții de la regulile generale menționate anterior.

Așa de exemplu, stabilitatea complecșilor cationilor grupei A nu descrește întotdeauna cu creșterea razei ionice, cum se întîmplă în cazul ionilor metalelor alcalino-pămîntoase (Be → Ca). Cationii mici formează într-adevăr cu anionii mici, complecși

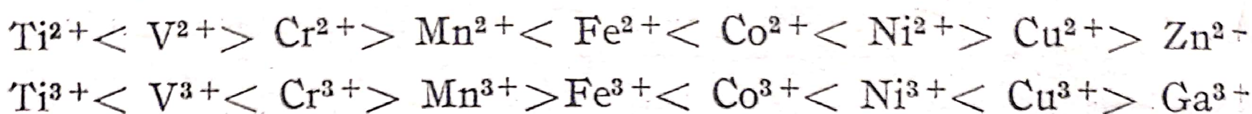
mai stabili decît cei ai cationilor mari, însă cu liganzi anionici mari, complecșii cationilor mari sînt mai stabili, decît cei ai cationilor mici. Spre exemplu, complecșii Ba(II) cu NO_3^-, IO_3^-, $S_2O_3^{2-}$ sînt mai stabili decît cei ai Mg (II). De asemenea stabilitatea Ca EDTA (sau cu tartrat) este mai mare decît stabilitatea complecșilor corespunzători ai Be (II) și Mg (II).

În cazul complecșilor ionilor metalelor tranziționale, este deosebit de importantă formarea legăturilor π dative, care determină o creștere a stabilității complecșilor ce implică astfel de legături. Formarea legăturilor π este determinată de interacțiunea orbitalilor d compleți ai ionilor generatori de complecși cu orbitalii p sau d liberi ai liganzilor (respectiv ai atomilor implicați în coordinare). Spre exemplu, se știe că ionii metalelor grupei B au o slabă tendință de a forma complecși fluorurați [18, 19], deoarece ioul F^-, neavînd substrat d, nu poate forma legături π. Pe de altă parte, deoarece forța legăturilor π scade cînd crește sarcina ionului generator, se poate explica scăderea stabilității complecșilor cu cianură, tiouree, tiosulfați și halogenuri (excepție F^-) ai cationilor seriilor Cu (I), Zn (II), Ga (III) și Ag (I), Cd (II), In (III).

Pe de altă parte, cationii cu valență mare, ai metalelor situate în dreapta celor cu configurație electronică a învelișului exterior de 18 e^-, ar trebui să se comporte mai ales ca și cationii grupei A, iar cationii cu valențe inferioare să se apropie mai mult de caracterele cationilor din grupa B. Totuși Tl (III) se apropie, prin comportarea sa, mai mult decît Tl (I) de grupa B. Acest lucru se explică prin aceea că, cei doi electroni, pe care-i acceptă Tl (III) pentru reducerea sa la Tl (I), nu se plasează pe orbitali d (deja ocupați), ci pe orbitali s, astfel că ei ecranează orbitalii d, care pot deci să formeze în mai mică măsură legături π.

S-a arătat că regula lui Irving-Williams este aplicabilă seriei de ioni care începe cu Mn (II) și se termină cu Zn (II). Dacă se ia în considerare ionul Cr (III), care precede Mn (II), se observă o intensificare a tendinței de complexare a acestui ion, ceea ce contravine regulei lui Irving-Williams. Dar această anomalie se poate explica prin teoria cîmpului de liganzi [11, 14], după care nivelele electronice ale ionului se scindează în urma coordinării, respectiv în urma interacțiunii cu ligandul într-un cîmp de o anumită simetrie. Regula lui Irving-Williams se aplică în cazul complecșilor în care liganzii ocupă patru poziții coordinative în același plan. Dacă liganzii ocupă șase poziții coordinative (sau dacă în sfera de coordinare există cinci liganzi), ordinea în care variază stabilitatea complecșilor este diferită. În cazul

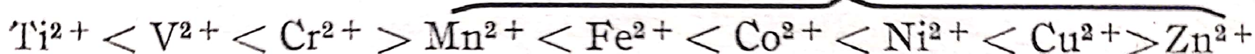
complecşilor octaedrici (luîndu-se în considerare configuraţiile geometrice ale complecşilor), stabilitatea variază, după Yatsimirskii, în ordinea:


$Ti^{2+} < V^{2+} > Cr^{2+} > Mn^{2+} < Fe^{2+} < Co^{2+} < Ni^{2+} > Cu^{2+} > Zn^{2+}$

$Ti^{3+} < V^{3+} < Cr^{3+} > Mn^{3+} > Fe^{3+} < Co^{3+} < Ni^{3+} < Cu^{3+} > Ga^{3+}$

Dacă însă cele patru poziţii coordinative ce le ocupă liganzii sînt în acelaşi plan, stabilitatea complecşilor variază conform regulei lui Irving-Williams:

Seria Irving-Williams


$Ti^{2+} < V^{2+} < Cr^{2+} > Mn^{2+} < Fe^{2+} < Co^{2+} < Ni^{2+} < Cu^{2+} > Zn^{2+}$

2.1.2. Clasificarea cationilor după Ahrland, Chatt şi Davies[20]

Această clasificare ţine seama tot de afinitatea cationilor pentru anumiţi liganzi, respectiv pentru anumiţi atomi donori din molecula acestora. După aceşti autori, cationii se împart în două grupe principale şi anume:

Grupa acceptorilor de tip „a", din care fac parte acei cationi ai metalelor din grupele IA, IIA, IIIA şi din grupele IVB, VB, care formează complecşii cei mai stabili, cu liganzi ce conţin ca atom donor primele elemente din grupele IVA, VA, VIA şi VIIA, adică atomi donori de C,N,O şi F. Din această grupă fac parte deci cationii metalelor alcaline, alcalino-pămîntoase, ioni Al(III), Ga (III), In (III), Ge (IV), Sn (IV) etc.

Grupa acceptorilor de tip „b", din care fac parte acei cationi ai metalelor din grupele IB, IIB, ionii de Pd (II), Pt (II) etc., care formează cei mai stabili complecşi cu liganzi care conţin ca atomi donori al doilea sau următoarele elemente din grupele IV A, V A, VI A, VII A, adică atomi donori de P,S,Cl, Br, I. etc. Din această grupă fac parte ionii Ag (I), Au (I), Hg (II), Pd (II), Pt (II), etc.

Există şi o a treia grupă de acceptori, care au o comportare intermediară faţă de acceptori de tip „a" şi de tip „b", din care fac parte cationii metalelor tranziţionale ca Mo (VI), Mn (II), Fe (II, III), Co (II), Ni (II), Cu (II), Zn(II) etc., şi ai altor metale, cum sînt Tl (I, III), Pb (II), Bi(III) etc.

În afară de aceste clasificări, mai există şi altele, dintre care cea mai potrivită pentru explicarea interacţiunilor preferenţiale dintre cationi şi liganzi, este aceea a lui Pearson [21], care va fi discutată mai departe.

2.2. CAPACITATEA LIGANZILOR DE A FORMA COMPLECȘI

În general, în analiza chimică și în controlul medicamentelor interesează mai ales liganzii cu mare capacitate de complexare, capabili să formeze complecși stabili, necesari pentru mascare și pentru determinări cantitative [15]. Dintre liganzii care conțin numai atomi donori de azot, se pot aminti 2,2′-dipiridilul [22] (pentru Cd, Fe, Ag, Mo), 1, lo-fenantrolina [23] și derivații acesteia (pentru Fe, Cu etc., Fig. 2. IV, 2.V, 2. VI, 2. VII, 2. VIII), piridil-(3)-fluorona [24] (pentru Sn (IV), Se (IV), V (V) etc), 2,2′-dichinolina [25] și alții. Unii dintre acești liganzi au fost utilizați pentru determinarea cantitativă a unor ioni metalici în medii sau în materiale biologice [26, 27, 31] sau apă [32]. Atomul de azot se află în acești liganzi sub forma grupelor amino primare, secundare și terțiare, a grupelor nitrozo, nitro, azo, diazo, nitril și carboxamidă.

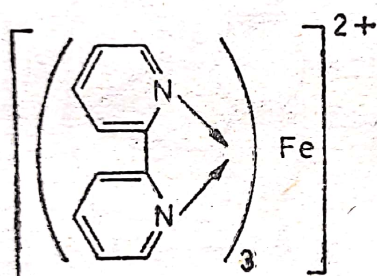


Fig. 2.IV. [Fe-(2,2'-dipiridil)$_3$]$^{2+}$

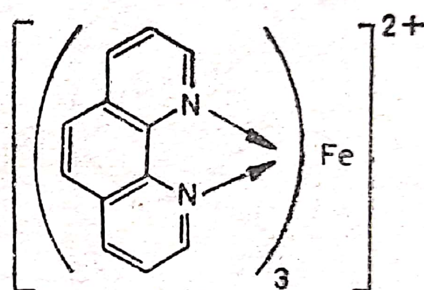


Fig. 2.V. [Fe-(1,10-fenantrolina)$_3$]$^{2+}$

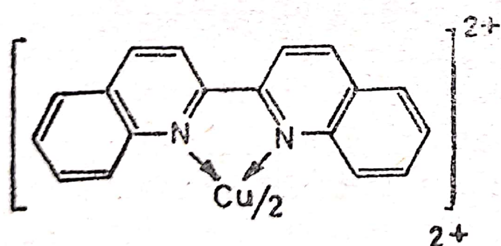


Fig. 2.VI. [Cu-(2,2'-dichinolil)$_2$]$^{2+}$ (Cu-cuproina).

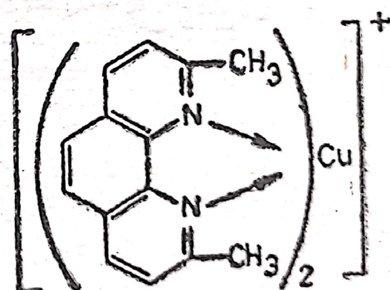


Fig. 2.VII. [Cu-(2,9-dimetil-1,10--fenantrolina)$_2$]$^{+}$ (Cu-neocuproina)

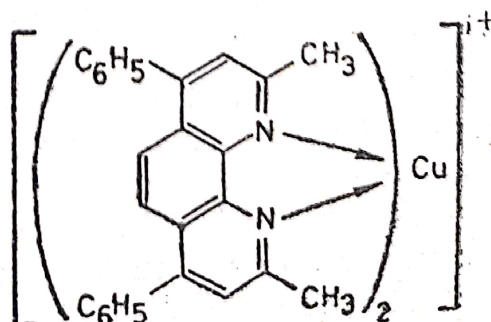


Fig. 2.VIII. [Cu-(batocuproină)$_2$]$^{+}$

O altă clasă de liganzi frecvent utilizați cuprinde substanțe ce conțin numai atomi donori de oxigen, conținuți sub forma grupelor hidroxil (alcoolice sau fenolice), carbonil, carboxil sau oxigen eteric. Printre cei mai importanți și mai sensibili se numără acidul aurintricarboxilic (pentru Be (II), Al (III) etc.) [33–35], acidul cloranilic (pentru Ca (II), Mo (VI) etc.) [36–40] acetilacetona -Fig. 2.IX (pentru Be(II), Fe(III) etc.) [41–43], alizarina -S [44–46] -Fig. 2.X și chinalizarina [47–50] (pentru Be(II) Mg(II), B(III), Al(III) etc.), murexidul (pentru Ca(II) și alți ioni [51, 52], tenoiltrifluoracetona (pentru Fe(II), Co(II), Cu (II), V (V) etc.) [53–56], acidul sulfosalicilic [57, 58] etc. Unii dintre acești liganzi sînt utilizați și la determinarea cantitativă a unor ioni metalici ai fierului [57], aluminiului [59], borului [49], calciului [51], din medii sau materiale biologice.

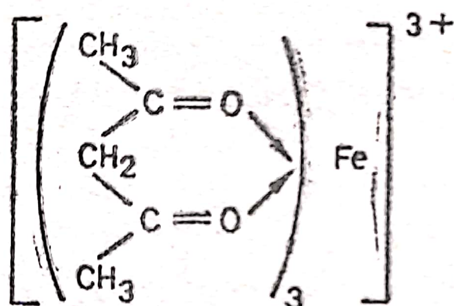


Fig. 2.IX. [Fe-(acetilacetona)$_3$]$^{3+}$

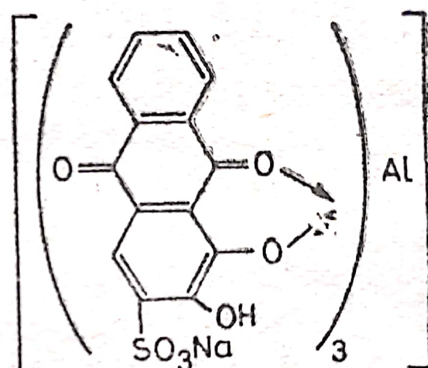


Fig. 2.X. Al(Alizarina-S)$_3$

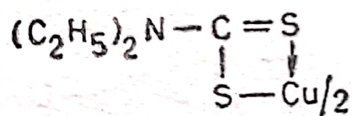


Fig. 2.XI. Cu(dietilditiocarbamat)$_2$

Dintre liganzii care conțin numai atomi donori de sulf, printre cei mai utilizați și studiați, se numără dietilditiocarbamatul de sodiu [60–63] (Fig. 2. XI), de argint [64] și de dietilamoniu [65,66], precum și toluen-3,4-ditiolul [67, 68]. Acești liganzi se utilizează pentru determinarea ionilor Cu (II), Bi (III), Ag (I) Tl (I), Sb (III), As (III) etc. Atomii de sulf sînt conținuți în acești liganzi sub formă de grupe tiolice, tioeter, tiocetonă, disulfură sau tiocarboxilat.

Mult mai numeroși sînt liganzii cu atomi donori de azot și de oxigen. Dintre aceștia se pot aminti albastrul variamin [69], cupferona [70]. -Fig. 2. XII, cuprizona [71], difenilcarbazida [72–74], acidul etilendiaminotetraacetic [75] și derivați sau compuși similari, unele oxime (ca dimetilglioxima [58], [76], formaldoxima [77], 2,2′-furildioxima [78] etc), 1-nitrozo-2-

naftol [79]-Fig. 2.XIII și alți liganzi înrudiți [80,81], oxina [82—84], xilenoloranjul [85], cuprona [86, 87] și alții, utilizați mai ales pentru ionii metalelor tranziționale.

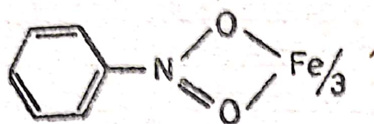


Fig. 2.XII. Fe(cupferon)
Fe-(N-nitrozo-fenilhidroxilamina)$_3$

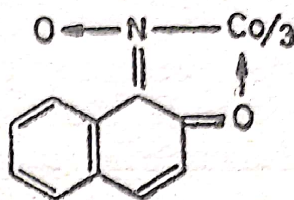


Fig. 2.XIII.
Co-(α-nitrozo-β-naftol)$_3$

Dintre liganzii cu atomi donori de azot și sulf, cei mai importanți sînt acidul rubeanic [88, 89]. Fig. 2. XIV, ditizona [90—94]. Fig. 2. XV, tioureea [95] etc.

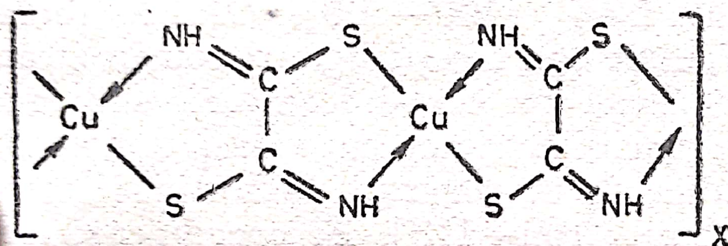


Fig. 2.XIV. [Cu(acid rubeanic)$_2$]$_x$

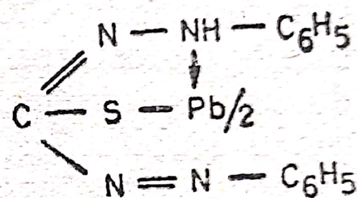


Fig. 2.XV. Pb-(ditizonă)$_2$, Pb-(difeniltiocarbazona)$_2$

Cea mai mare capacitate de complexare o au liganzii bi și polidentați, față de ionii cu numere de coordinare 4,6, cu care pot forma cicluri chelate de cinci și de șase atomi, foarte stabile. Iar dintre aceștia cei mai buni agenți chelatanți sînt liganzii polidentați. Trebuie precizat însă că în cazul cationilor cu număr de coordinare mic (de exemplu, 2, în cazul argintului), complecșii cu liganzi monodentați sînt cei mai stabili (deci mai stabili decît chelații).

După Schwarzenbach [96], printre cei mai buni agenți de chelatare se numără acizii aminopolicarboxilici de tipul complexonilor, care conțin atomi donori de azot și oxigen. Iar dintre aceștia, mai frecvent utilizați sînt acidul nitrilotriacetic (H_3X), acidul etilendiaminotetraacetic (H_4Y), sarea disodică a acestuia din urmă EDTANa$_2$. $2H_2O$, care este mai solubilă, acidul ciclohexandiaminotetraacetic sau DCTA (H_4T) etc. Deși complecșii DCTA sînt ceva mai stabili, în practică se utilizează mai mult EDTA, inclusiv în scopuri biomedicale, deoarece are o toxicitate mai redusă.

S-au făcut unele încercări de a mări puterea de complexare a acestor liganzi [96], prin introducerea unui atom de oxigen eteric între atomii de azot ai EDTA sau DCTA [97], a unui

atom de sulf sau a unor grupe metiliminice. S-a mărit de asemenea numărul pozițiilor coordinative prin introducerea unor grupe aminocarboxilice suplimentare. În unele cazuri (exemplu, acidul dietilentriaminopentaacetic-DTPA, ligand octadentat) se obțin complecși mult mai stabili decît cei ai EDTA, dar, în aceste cazuri, scade stabilitatea complecșilor în mediu alcalin, astfel încît încercările menționate nu sînt justificate practic.

O altă cale de a mări considerabil stabilitatea complecșilor, este aceea a utilizării solvenților neapoși. Așa, de exemplu, în cazul liganzilor cu fosfor sau sulf (acid rubeanic, ditizonă etc), este chiar necesar să se utilizeze solvenți neapoși, în care complecșii metalici sînt solubili și foarte stabili.

Trebuie menționat că și unii anioni bivalenți și chiar monovalenți anorganici pot forma complecși chelați; dintre aceștia se pot menționa ClO_4^- [98,99], NO_3^- [100—106], OMPA (octametil-pirofosforamida) [107, 108] etc. Acești liganzi conțin atomi donori de oxigen, dar complecșii pe care-i formează sînt mai puțin stabili. În schimb, liganzii organici cu atomi donori de oxigen, cum sînt acetilacetona și, în general, β-dicetonele, sînt agenți de chelatare foarte buni [109—113]. Ei coordinează mai ales cu ionii metalelor tranziționale (cupru, zinc, cadmiu, paladiu, platină, mangan, crom, fier, cobalt, nichel etc) [114], formînd complecși de tipul $M(acac)_2$, respectiv $M(acac)_3$, cu structură polimeră [115] (de exemplu $Ni(acac)_3$ este un trimer). Dintre celelalte β-dicetone utilizate pentru chelatarea, mai ales a Cr (III) și Fe (III), se pot aminti trifluoracetilacetona [116—118], benzoil-acetona [119], dibenzoilacetona [120, 121], formilacetona [122] etc. Este interesant că însăși acetilacetonații metalici pot funcționa ca liganzi [113].

Dintre liganzii bi- sau tridentați, cu atomi donori de oxigen și azot, mai bine studiate sînt bazele Schiff, care conțin grupe azometin (—C = N) și grupe hidroxil, ambele coordinativ active. Spre exemplu, salicilaldiminele (Fig. 2. XVI) formează complecși ce prezintă izomerie geometrică cis-trans [123, 124], cu configurație plan-patratică sau tetraedrică, în funcție de natura substituentului X [125]. Saliciltrietilenaldimina (saltn) [126] și saliciletilenamino-R-R'-aldimina (salen) [127], funcționează ca liganzi tridentați, dar există și baze Schiff care funcționează ca liganzi penta [128] și hexadentați [129].

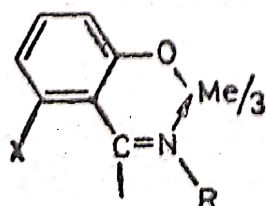


Fig. 2.XVI. Salicilaldimine metalice.

O altă clasă de liganzi cu mare capacitate de complexare este aceea a α-ditiocetonelor, care formează complecși mai ales cu ionii unor metale tranziționale cum sînt Cu(II) [130], Ni(II) [131], Cr(III) [132] (cationii bivalenți fiind tetracoordinați, iar cei trivalenți, fiind hexacoordinați). Cel mai utilizat dintre acești liganzi este maleonitrilditiolul (Fig. 2. XVII) [133].

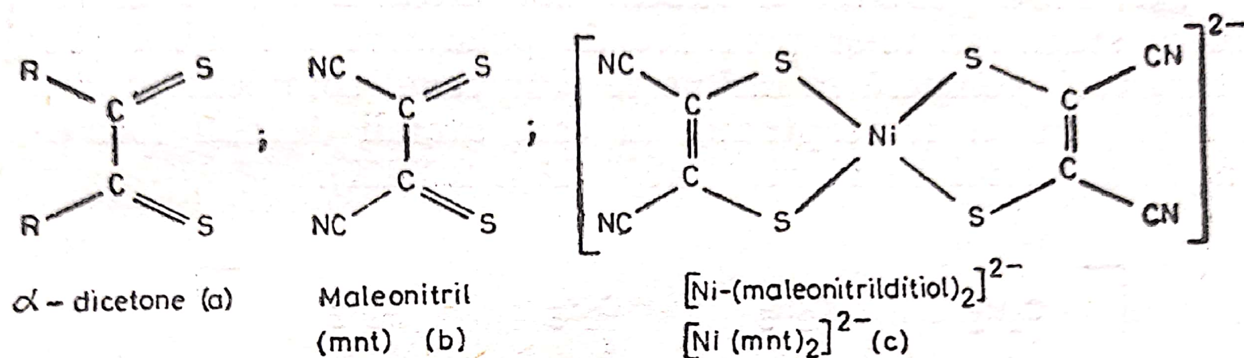


Fig. 2.XVII.

În general, complecșii metalelor tranziționale cu maleonitrilditiolul sînt de forma M^{I}_{2} [M^{II} $(mnt)_2$] sau M^{I}[$M^{III}$$(mnt)_2$] [134]. Dintre α-ditiocetonele mai utilizate și mai studiate se pot aminti acelea în care R = fenil și trifluormetil ($-CF_3$) [135], utilizate ca liganzi pentru nichel. În mod similar se comportă și toluen-3, 4-ditiolul(tdt) [136] și unii liganzi înrudiți, conținînd substituenți la nucleul aromatic [137] Fig. 2.XVIII.

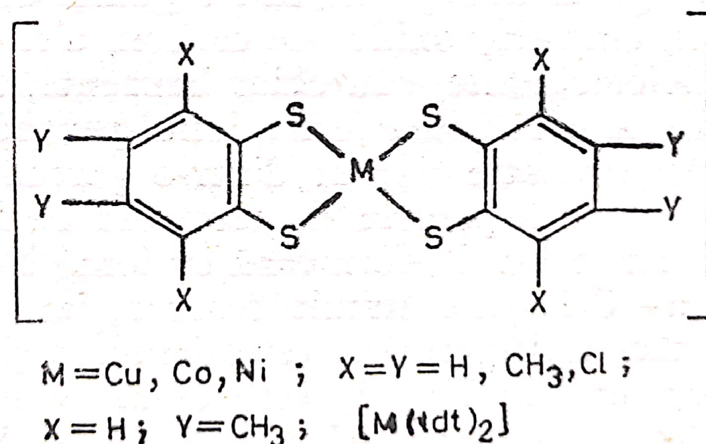


Fig. 2.XVIII. Complecși metalici ai toluen-3,4-ditiolului.

Unii dintre complecșii $[M-S_4]^{z-}$ au structură dimeră, cum este cazul $[CoS_4C_4(CF_3)_4]$ și a altora [138], iar în cazul dimerilor, complecșilor de tipul $[PdS_4C_4H_4]$ sau $[PtS_4C_4H_4]$, s-a putut evidenția existența unei legături metal-metal, adică Pd-Pd, respectiv Pt-Pt [139]. Se cunosc și complecși polinucleari cu sulf, cum sînt complecșii Ni(II) cu etilmercaptanul [140], ai Pt(II)

cu etilmercaptanul și tributilfosfina [141], sau cu 3-etiltiopropan-l-tiol [142]. etc.

Este interesant că numeroși chelați au structură polimeră. Așa, de exemplu, rubeanații de Ni(II) [143] și de Cu(II) [144] au structură polimeră, din cauza unor efecte sterice ale ligandului (vezi Fig. 2. XV).

Structura polimeră a rubenaților metalici a fost utilizată pentru stabilirea unor procedee de polarizare a luminii [145]. O structură polimeră se întîlnește și în cazul complexului chelat al Ni(II) cu etilmercaptanul, în care atomii de sulf formează punți între ionii de nichel [143], (Fig. 2.XIX).

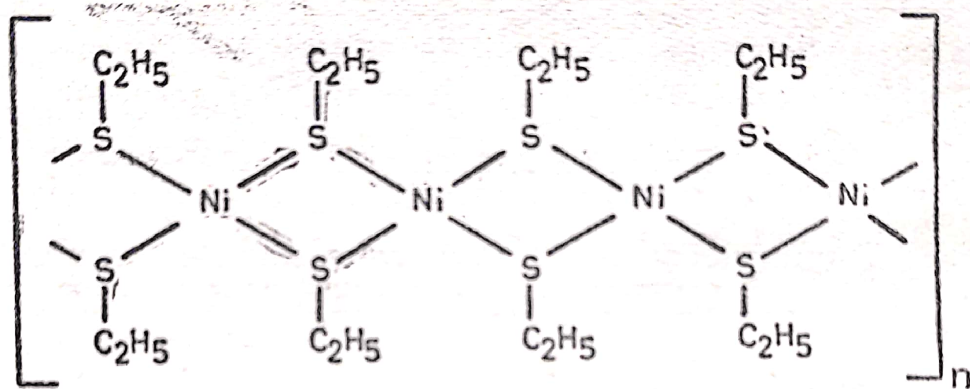


Fig. 2.XIX. $[Ni_x(\text{etilmercaptan})\ y]_n$

Foarte interesanți sînt și complecșii pe care-i formează unii ioni metalici cu liganzi anorganici sau organici ce conțin atomi donori de carbon, cum sînt oxidul de carbon, alchenele (în general olefinele și cicloalchenele) sau chiar benzenul. Așa, de exemplu, ciclopentadiena, care poate forma ionul pentadienil $-C_5H_5^-$ (ce are un sextet aromatic format dintr-o pereche de electroni nelocalizați și cele două perechi de electroni ce formează legăturile π din dublele legături), formează cu ionul Fe(III) un complex de forma $(\pi-C_5H_5)_2Fe$ numit ferocen, iar datorită structurii sale (respectiv configurației) este denumit și complex sandvich, deoarece ionul de Fe(III) este așezat central între cele două cicluri. Complecși sandvich formează și benzenul, care dispune de un sextet aromatic de electroni π. Spre exemplu, cu unii ioni ai metalelor tranziționale, cum este Cr(III), formează dibenzocromul, $Cr(C_6H_6)_2$. În afară de interesul teoretic, unii complecși ai olefinelor cu ioni ai metalelor tranziționale sînt utilizați în tehnică ca antidetonanți pentru carburanți, în metalurgie, la rafinarea metalelor, sau drept catalizatori în numeroase sinteze organice.

Numărul liganzilor cunoscuți este foarte mare și în continuă creștere. Problemele privitoare la capacitatea lor de a forma

complecşi sînt numeroase şi depăşesc obiectul propus de autori, de aceea în tabelul 2.2 sînt daţi numai unii dintre liganzii organici chelatanţi mai frecvent utilizaţi, ţinîndu-se seama de felul şi numărul atomilor donori din molecula lor (atomi de oxigen, azot şi sulf), care fie că au aplicaţii biomedicale în terapia intoxicaţiilor cu metale grele, fie că se aplică la determinarea metalelor grele din medii şi materiale biologice, mai ales din serul sanguin.

TABEL 2.2

Principalii liganzi utilizaţi pentru determinarea cationilor

Liganzii	Cationii pentru care se utilizează (şi bibliografia)
Liganzi cu atomi donori de azot	
1-Naftilamina	Au(146)
o-Toluidina	Au(147)
o-Fenilendiamina	Pt(148)
2,2'-dipiridilul	Fe(II) (22), Fe(III) (149) Cd(150) Ag(I) (152); Mo(VI) (151)
1,10-Fenantrolina	Pd(II) (153); Fe(II) (23)
4,7-Difenil-1,10-fenantrolina-3,8-disulfonat de sodiu (batofenantrolin disulfonat de sodiu)	Fe(II) (30, 31)
4,7-Difenil-1,10-fenantrolina (batofenantrolina)	Fe(II) (27, 28, 29)
2,2'-Dichinolina (cuproina)	Cu(II) (25, 32)
2,9-Dimetil-1,10-fenantrolina (neocuproina)	Cu(II) (154)
2,9-Dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina (batocuproina)	Cu(II) (155)
2,9-Dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina-3,8-disulfonat de sodiu (batocuproindisulfonat de sodiu)	Cu(II) (155)
Tetraclorura de 3,3'-diaminobenziliden	Se(IV) (156, 157)
Piridil-(3)-fluorona	V(V) (187); Sn(IV) (24)
Verde-briant	Tl(I) (158)
Liganzi cu atomi donori de oxigen	
Acidul tartric	Al(III), Fe(III), Cr(IIII) (159), 160)
Acidul oxalic	Fe(III), Cr(III) (5)
Acidul sulfosalicilic	Fe(III) (57, 58)
Acidul aurintricarbonic-sare de sodiu (aluminona)	Al(III) (33, 34); Be(II) (35,)

Liganzii	Cationii pentru care se utilizează (şi bibliografia)
Acidul cloranilic	Ca(II) (36, 37, 38) ; Mo(VI) (39, 40)
Acidul cromotropic	Ti(IV) (161)
Acetilacetona	Be(II) (41) Fe(III) (42, 43)
Alizarina S(alizarinsulfonat de Na)	Al(III) (44) ; B(III) (45) ; Zr(IV) (46)
Chinalizarina	Be(II) (48) ; Mg(II) (50), B(III) (49) ; Al(III) (47)
Eriocromcianina R	Al(III) (162)
Fenilfluorona	Sn(IV) (163, 164)
Murexidul	Ca(II) (51, 52)
Quercitina	Mo(VI) (165)
Rodizonatul de sodiu	Ba(II) (166) ; Sr(II) (167)
Tenoilfluoracetona	Fe(III) (53) ; Co(II) (54) ; Cu(II) (55) ; V(V) (56)
Tironul	Fe(III) (168) ; Ti(IV) (169)
Violetul de pirocatechină	Bi(III) (170) ; Sn(IV) (171)
Liganzi cu atomi donori de sulf	
Acidul pirolidin-1-ditiocarbonic (sare de sodiu)	Cu(II) (172)
Bismutiolul I	Bi(III) (173) ; Pd(II) (174)
Dietilditiocarbamatul de sodiu	Ag(I) (60) ; Cu(II) (61) ; Tl(I) (62) ; Ni(II) (63) ; Mn(II) (175)
Dietilditiocarbamatul de argint	As(III), Sb(III) (64)
Dietilditiocarbamat de dietilamoniu	Cu(II) (65, 66)
Toluen-3,4-ditiolul (ditiol)	As(III) (67) ; Mo(VI) (68) ; Sn(II) (176)
Liganzi cu atomi donori de azot şi oxigen	
Albastrul variamin	V(V) (69)
Arsenazo III	U(VI) (177)
Cupferona	V(V) (70)
Cuprizona(Bis-ciclohexanonoxalildihidrazona)	Cu(II) (71)
Difenilcarbazida	Cd(II) (72) ; Cr(III) (73) ; Hg(II) (74)
1,1'-Diantrimida(1,1'-diantrachinoilamina)	B(III) (178) ; K(I) (179)
Dimetilglioxima	Ni(II) (58, 76)
EDTA (acidul etilendiaminotetraacetic)	Ca(II), Ba(II), Sr(II), Mg(II), Zn(II), Al(III), Bi(III), Fe(II, III) etc. (75)

Liganzii	Cationii pentru care se utilizează (şi bibliografia)
Formaldoxima	Mn(II) (77)
2,2'-Furildioxima	Ni(II) (78)
Glioxalilbis-(2-hidroxianil)	Ca(II) (180)
N-Benzoil-N-fenilhidroxilamina	V(V) (181)
Sarea Nitrozo-R	Co(II) (80)
1-Nitrozo-2-naftol	Co(II) (79)
2-Nitrozo-1-naftol	Co(III) (81)
Negru eriocrom-T	Mg(II), Zn(II) (182)
4-Metoxi-2-tiazolil-(2)azo-fenol (TAM)	Hg(II) (183)
Oxina(8-hidroxichinolina)	Mg(II) (83), Ca(II) (84) Al(III) (82)
4-Piridil-(2)-azo-rezorcina(PAR)	Pb(II) (184), V(V) (185)
1-Piridil-(2)-azo-2-naftol (PAN)	Co(II) (186), V(V) (188)
Rodamina B	Tl(I) (189), Sb(III) (190)
Salicilaldoxima	Cu(II) (191)
Trietanolamina	Mn(II) (192)
Vanadox	V(V) (193)
Xilenoloranjul	Bi(III) (85)
Zincon	Zn(II) (194)
Cuprona (α-benzoinoxima)	Cu(II) (86), Mo(VI) (87)
Liganzi cu atomi donori de azot şi sulf	
Acidul rubeanic (ditiooxamida)	Cu(II) (88), Ni(II) (89)
Cisteina	Cu(III) (195)
p-Dimetilaminobenzilidenrodanina	Hg(II) (197) ; Ag(I) (196)
Ditizona	Pb(II) (90, 91) ; Zn(II) (94) ; Cd(II) (92) ; Hg(II) (93)
Tioureea (198)	Os(VIII) (95)

În sfîrşit, trebuie avut în vedere că marea majoritate a substanţelor medicamentoase conţin grupe funcţionale, care pot fi considerate ca grupe funcţionale analitice şi analitice active şi prin urmare pot concura în organism la formarea unor complecşi

chelaţi, datorită atomilor donori de azot, oxigen şi sulf, pe care-i conţin. Pentru exemplificare se pot aminti unii aminoacizi, ca glicocolul, acidul p-aminobenzoic şi derivaţii săi (exemplu novocaina), acidul p-aminosalicilic etc., care pot forma cu ionul Cu(II) complecşi chelaţi. Se pot aminti de asemenea unii hidroxiacizi cum sînt acizii tartric şi citric, care pot chelata ionii F(III), Al(III), Cr(III), derivaţii acidului nicotinic (HIN, nicotinamida, vitamina PP, dietilnicotinamida etc) care pot chelata ionul Cu(II), barbituricele, care coordinează cu ionii de Cu(II) şi Co(II), penicilinele, care coordinează cu Fe(III), pirazolonele (fenazona, aminofenazona, noraminofenazona etc) care complexează de asemenea Fe(III) etc. De aceste interacţiuni ar trebui să se ţină seama la prescrierea şi administrarea medicamentelor.

2.3. CLASIFICAREA CATIONILOR ŞI A LIGANZILOR DUPĂ PEARSON [21]

Această clasificare ţine seama de preferinţa de complexare a cationilor şi a liganzilor, preferinţă ce stă la baza discutării tăriei legăturii metal-ligand şi deci a probabilităţii de formare a complecşilor. Potrivit acestei teorii, ionii metalici sînt consideraţi acizi şi se împart în acizi duri şi moi (dar există şi acizi cu comportare intermediară), iar liganzii sînt consideraţi baze şi se împart de asemenea în baze dure şi moi (dar există şi baze cu comportare intermediară).

Acizi duri sînt ioni metalici care au o sarcină mare şi volum mic şi nu dispun de electroni uşor excitabili, iar acizii moi sînt ioni metalici cu sarcină mică (faţă de grupa din care fac parte în sistemul periodic), volum mare şi care au mai mulţi electroni uşor excitabili.

Bazele dure sînt acei liganzi care conţin atomi donori cu polarizabilitate scăzută, cu electronegativitate mare, ai căror orbitali moleculari neocupaţi au energie mare şi deci nu sînt accesibili ; aceşti liganzi se oxidează greu. Dimpotrivă, bazele moi sînt liganzi ai căror atomi donori au polarizabilitate mare, electronegativitate mică şi se oxidează uşor, deoarece orbitalii moleculari neocupaţi au energie mică, iar electronii de valenţă se pot îndepărta ca urmare a deformării pronunţate a orbitalilor lor. Clasificarea ionilor metalici este dată în tabelul 2.3.

TABEL 2.3

Clasificarea cationilor după Pearson.

Ioni metalici acizi duri										
(H^{+})										
Li^{+},	Be^{2+}									
Na^{+},	Mg^{2+},	Al^{3+},	Si^{4+}							
K^{+},	Ca^{2+},	Sc^{3+},	Ti^{4+}	VO^{2+}	Cr^{3+}	Mn^{2+}	Fe^{3+}	Co^{3+}	Ga^{3+}	As^{3+}
Rb^{+},	Sr^{2+},	Y^{3+},	Zr^{4+}		MoO^{3+}				In^{3+}	
Cs^{+},	Ba^{2+},	La^{3+},	Hf^{4+}							
			Th^{4+}							
			U^{4+}, UO_2^{2+}, ionii lantanidelor							
Ioni metalici intermediari										
			Fe^{2+}	Co^{2+}	Ni^{2+}	Cu^{2+}	Zn^{2+}			
			Ru^{2+}	Rh^{3+}				Sn^{2+}	Sb^{3+}	
			Os^{2+}	Ir^{3+}				Pb^{2+}	Bi^{3+}	
Ioni metalici acizi moi										
			Cu^{+}							
	Pd^{2+}		Ag^{+}	Cd^{2+}				Te^{4+}		
Pt^{2+},	Pt^{4+}		Au^{+}	Hg^{+}, Hg^{2+}	Tl^{+}, Tl^{3+}					

Clasificarea liganzilor în baze dure și moi este dată în tabelul 2.4.

TABEL 2.4

Clasificarea liganzilor în baze dure și moi după Pearson.

Liganzi baze dure
H_2O OH^- RCO_2^- PO_4^{3-} SO_4^{2-} CO_3^{2-} NO_3^- ROH RO^- R_2O F^- Cl^-
Liganzi baze intermediare
NH_3 RNH_2 N_2H_4
Br^- N_3^- NO_2^- SO_3^{2-} piridina anilina
Liganzi baze moi
R_2S RSH RS^- SCN^- $S_2O_3^{2-}$
R_3P $(RO)_3P$
I^- CN^-

TABEL 2.3

Clasificarea cationilor după Pearson.

Ioni metalici acizi duri

(H^+)

Li^+, Be^{2+}

Na^+, Mg^{2+}, Al^{3+}, Si^{4+}

K^+, Ca^{2+}, Sc^{3+}, Ti^{4+} VO^{2+} Cr^{3+} Mn^{2+} Fe^{3+} Co^{3+} Ga^{3+} As^{3+}

Rb^+, Sr^{2+}, Y^{3+}, Zr^{4+} MoO^{3+} In^{3+}

Cs^+, Ba^{2+}, La^{3+}, Hf^{4+}

Th^{4+}

U^{4+}, UO_2^{2+}, ionii lantanidelor

Ioni metalici intermediari

Fe^{2+} Co^{2+} Ni^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+}

Ru^{2+} Rh^{3+} Sn^{2+} Sb^{3+}

Os^{2+} Ir^{3+} Pb^{2+} Bi^{3+}

Ioni metalici acizi moi

Cu^+

Pd^{2+} Ag^+ Cd^{2+} Te^{4+}

Pt^{2+}, Pt^{4+} Au^+ Hg^+, Hg^{2+} Tl^+, Tl^{3+}

Clasificarea liganzilor în baze dure și moi este dată în tabelul 2.4.

TABEL 2.4

Clasificarea liganzilor în baze dure și moi după Pearson.

Liganzi baze dure

H_2O OH^- RCO_2^- PO_4^{3-} SO_4^{2-} CO_3^{2-} NO_3^- ROH RO^- R_2O F^- Cl^-

Liganzi baze intermediare

NH_3 RNH_2 N_2H_4

Br^- N_3^- NO_2^- SO_3^{2-} piridina anilina

Liganzi baze moi

R_2S RSH RS^- SCN^- $S_2O_3^{2-}$

R_3P $(RO)_3P$

I^- CN^-

TABEL 2.3

Clasificarea cationilor după Pearson.

Ioni metalici acizi duri										
(H^{+})										
Li^{+},	Be^{2+}									
Na^{+},	Mg^{2+},	Al^{3+},	Si^{4+}							
K^{+},	Ca^{2+},	Sc^{3+},	Ti^{4+}	VO^{2+}	Cr^{3+}	Mn^{2+}	Fe^{3+}	Co^{3+}	Ga^{3+}	As^{3+}
Rb^{+},	Sr^{2+},	Y^{3+},	Zr^{4+}		MoO^{3+}				In^{3+}	
Cs^{+},	Ba^{2+},	La^{3+},	Hf^{4+}							
			Th^{4+}							
			U^{4+}, UO_2^{2+}, ionii lantanidelor							
Ioni metalici intermediari										
			Fe^{2+}	Co^{2+}	Ni^{2+}	Cu^{2+}	Zn^{2+}			
			Ru^{2+}	Rh^{3+}				Sn^{2+}	Sb^{3+}	
			Os^{2+}	Ir^{3+}				Pb^{2+}	Bi^{3+}	
Ioni metalici acizi moi										
			Cu^{+}							
	Pd^{2+}		Ag^{+}	Cd^{2+}				Te^{4+}		
Pt^{2+},	Pt^{4+}		Au^{+}	Hg^{+},	Hg^{2+}	Tl^{+},	Tl^{3+}			

Clasificarea liganzilor în baze dure şi moi este dată în tabelul 2.4.

TABEL 2.4

Clasificarea liganzilor în baze dure şi moi după Pearson.

Liganzi baze dure

H_2O OH^- RCO_2^- PO_4^{3-} SO_4^{2-} CO_3^{2-} NO_3^- ROH RO^- R_2O F^- Cl^-

Liganzi baze intermediare

NH_3 RNH_2 N_2H_4

Br^- N_3^- NO_2^- SO_3^{2-} piridina anilina

Liganzi baze moi

R_2S RSH RS^- SCN^- $S_2O_3^{2-}$

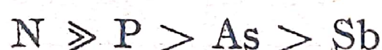
R_3P $(RO)_3P$

I^- CN^-

În general, duritatea este caracteristică legăturilor pronunţat ionice, iar moliciunea, celor pronunţat covalente. Clasificarea lui Pearson este în fond o generalizare a clasificărilor anterioare şi concordă dealtfel şi cu definiţia lui Lewis, potrivit căreia bazele sînt substanţe capabile de a dona o pereche de electroni pentru formarea unei legături coordinative, iar acizi sînt substanţe care pot accepta o pereche de electroni. Deci ionii metalici sînt acizi Lewis, iar liganzii sînt baze Lewis [199].

Acizii duri interacţionează mai ales cu bazele dure, iar bazele moi interacţionează mai ales cu acizii moi, în ambele cazuri formîndu-se legături puternice. Aceasta înseamnă că, în aceste două cazuri, se obţin complecşi cu stabilitate maximă. Este de la sine înţeles că această comportare preferenţială nu exclude posibilitatea coordinării acizilor duri cu baze moi şi invers, dar în aceste cazuri stabilitatea complecşilor care se formează este mai mică. Aşa, de exemplu, constantele de stabilitate ale complecşilor ionilor bivalenţi ai metalelor tranziţionale din prima serie, cu un anumit ligand, urmează în general seriile lui Irving-Williams: Mn < Fe < Co < Ni < Cu > Zn. Însă, diferenţele dintre constantele de stabilitate ale complecşilor ionilor unei asemenea serii cu liganzi diferiţi cresc mult cu creşterea caracterului moale al liganzilor. Spre exemplu, stabilitatea complecşilor ionilor seriei de mai sus, cu acid oxalic (bază dură), în raport de 1 :2, creşte de 4.10^2 ori de la Mn(II) la Cu(II), spre deosebire de complecşii corespunzători cu etilendiamina (bază moale), a căror stabilitate creşte de la Mn(II) la Cu(II), de 10^{12} ori (deci de zece miliarde de ori mai mult decît în cazul complecşilor oxalici).

La interacţiunea ionilor metalici, acizi duri, cu liganzi baze dure, stabilitatea complecşilor variază în ordinea (a) :



$$N \gg P > As > Sb$$



$$O \gg S > Se > Te$$



$$F < Cl > Br > I$$

(a)

iar la interacţiunea ionilor metalici, acizi moi, cu liganzi baze moi, în ordinea (b) :



$$N \ll P > As > Sb$$



$$O \ll S \sim Se \sim Te$$



$$F < Cl < Br < I$$

(b)

De remarcat că nu se poate confunda caracterul de dur și de moale al liganzilor cu tăria lor bazică, măsurată prin afinitatea lor față de protoni, adică prin tendința lor de a accepta protoni. Spre exemplu, anionul F^- este o bază Brönsted slabă, dar o bază Pearson dură în timp ce anionul CN^- este o bază Brönsted foarte puternică, dar o bază Pearson moale. De aceea este explicabil faptul că ionul Al(III) (acid dur) formează complecși mai stabili cu ionul fluorură (bază dură) decît cu ionul cianură (bază moale). În schimb, ionul Ag(I), acid Pearson moale, formează un complex mult mai stabil cu ionul CN^- decît cu ionul F^-, ceea ce, de asemenea, este ușor de explicat prin teoria lui Pearson, dar mai puțin explicabil prin alte teorii.

Teoaria lui Pearson permite formularea unor concluzii generale privitoare la interacțiunile ionilor metalici cu diverși liganzi.

a. Stabilitatea complecșilor ionilor metalici acizi duri cu liganzi baze dure crește cu sarcina ionului metalic ($Na^+ < Mg^{2+} < Al^{3+}$), iar în cazul complecșilor ionilor metalici acizi moi cu liganzi baze moi, stabilitatea scade cu creșterea sarcinii ($Ag^+ > Cd^{2+} > Au^{3+} > Sn^{4+}$). Există și excepții de la această regulă. Așa, de exemplu, Ti (III) este un acid mai moale decît Ti(I), deoarece electronii cedați la oxidarea Ti(I) la Ti(III), sînt tocmai electronii care au ecranat formal electronii d. În mod similar se explică faptul că Sn(IV) și As(V) sînt acizi mai moi decît Sn(II) și As(III).

b. Ionii metalici acizi duri coordinează mai bine cu atomul cel mai ușor dintr-o grupă de nemetale a sistemului periodic (ceea ce concordă și cu clasificarea lui Ahrland, Chatt și Davies), iar ionii metalici acizi moi coordinează mai bine cu atomii mai grei dintr-o grupă de nemetale a sistemului periodic. Această comportare se datorește probabil orbitalilor neocupați ai acestor atomi mai grei, care sînt disponibili pentru formarea legăturilor π dative cu unii electroni d ai ionilor metalici acizi moi.

c. Ionii metalici acizi duri, cu configurații electronice de gaz inert cum sînt Na(I), Ca(II), Al(III), etc., formează legături puternice cu liganzi cu oxigen sau fluor, manifestînd o afinitate scăzută față de amoniac și cianură (baze Pearson intermediare sau moi) ; pe de altă parte în cazul ionilor metalici cu sarcină mare se constată, indiferent de configurațiile electronice, o preferință similară, ceea ce duce adesea la formarea unor hidroxo sau oxo-cationi ca VO_2^+ și UO_2^{2+}.

La grupele de cationi înrudiți, cum sînt cei ai metalelor alcaline și alcalino-pămîntoase, stabilitatea complecșilor cu liganzi mici descrește cu mărimea cationului, în timp ce stabilitatea

complecșilor cu liganzi voluminoși (mari) variază invers. În cazul liganzilor polidentați cu atomi donori de oxigen, se constată o comportare intermediară. De exemplu Ca-EDTA sau Ca-CDTA sînt mai stabili decît complecșii corespunzători ai Mg(II) și Ba(II).

d. Dimpotrivă complecșii cationilor ușor deformabili, cum sînt Cu(I), Ag(I), Au(I) formați cu liganzi ca CN^-, NH_3, I^-, sînt mai stabili decît complecșii corespunzători cu ionii OH^-, F^- sau cu H_2O. În schimb, în cazul grupei de cationi Zn(II), Cd(II), Hg(II) se constată o comportare intermediară, dar mai apropiată de aceea a cationilor Cu(I), Ag(I) decît de comportarea Ca(II), Sr(II), Ba(II).

e. În cazul ionilor cu valență variabilă, la care trebuie să se țină seama de energiile de stabilizare a cîmpului și de efectele sterice, ionii cu sarcină mică coordinează mai ales cu liganzi cu sulf și azot, iar ionii cu sarcină mare coordinează mai ales cu liganzi cu oxigen. Acest fapt se poate dovedi prin stabilitatea mai mare a complexului Fe(II) cu o-fenantrolina, decît aceea a complexului Fe(III)-o-fenantrolină, în timp ce complexul Fe(III)-citrat este mai stabil decît complexul Fe(II)-citrat. Aceste comportări se aplică și în alte cazuri, destul de frecvent întîlnite în practică. Așa, de exemplu, constantele de stabilitate ale complecșilor Mn(II)-EDTA și Fe(II)-EDTA sînt de același ordin de mărime ($6{,}71.10^{13}$ și $2{,}14.10^{14}$), însă complexul Fe(III)-EDTA este de 10^{10} ori mai stabil ($1{,}26\cdot10^{25}$). Prin urmare dacă trebuie să se determine Mn(II) în prezența Fe(II), se poate oxida Fe(II) la Fe(III) care se maschează apoi cu EDTA.

f. Există posibilitatea modificării însușirii de dur sau moale a liganzilor, prin introducerea în molecula acestora a unor substituenți la atomul donor. Dacă substituenții sînt donori de electroni se intensifică moliciunea, iar dacă sînt atrăgători de electroni se mărește duritatea ligandului.

BIBLIOGRAFIE

1. Ralea, R., Popa-Rang, A., *Chimia și structura combinațiilor complexe*, Ed. didactică și pedagogică, București, 1965.
2. Spacu, P., Brezeanu, M., *Chimia combinațiilor complexe*, Ed. II, Ed. did. și ped., București, 1974.
3. Gennaro, A. R., *Complexation*, în Martin E. W., *Remington's Pharmaceutical Science*, Mark Publishing Comp., Easton, Pensylvania, 1965.

4. Grecu, I., *Chimie anorganică*, Lito, I.M.F. Cluj, 1972.
5. Roman, L., *Chimie analitică calitativă*, Lito, I.M.F., Cluj-Napoca, 1973.
6. Morait, Gh., *Chimie analitică calitativă*, Lito, I.M.F., București, 1970.
7. Burger, K., *Organic Reagents in Metal Analysis*, Pergamon Press, Oxford, New York, Toronto, Sydney, Braunschweig, 1973.
8. Ringbom, A., *Les Complexes en Chimie Analytique*, Dunod, Paris, 1967.
9. Bethe, H., Annalen der Physik, 3, 133, 1929.
10. Orgel, L. F., *An introduction to transition-metal chemistry. Ligand Field Theory*, London, New York, Wiley, 1962.
11. Sidgwick, N. V., J. Chem. Soc., 433, 1941.
12. Van Uitert, L. G., Fernelius, W. C., J. Amer. Chem. Soc., 76, 375, 1954.
13. Yatsimirskii, K. B., Vasiliev, V. P., *Instability constants of complex compounds*, Pergamon Press, New York, 1960.
14. Schwarzenbach, G., Experientia, Suppl., 5, 162, 1956.
15. Schwarzenbach, G., *The general selective and specific formation of complexes by metalic cations. Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry*, vol. III, Academic Press, New York, 1961.
16. Irving, H., Williams, R.J.P., J. Chem. Soc., 3192, 1953.
17. Ahrland, S., Acta Chem. Scand., 10, 723, 1956.
18. Leden, I., Chatt, J., J. Chem. Soc., 2936, 1955.
19. Lewis, J., Willkins, R. G. (eds.), *Modern Coordination Chemistry*, Interscience, New York-London, 1960.
20. Ahrland, S., Chatt, J., Davies, N.R., Quart. Rev., 12,3, 265, 1958.
21. Pearson, R. G., J. Amer. Chem. Soc., 85, 3533, 1963; Science, 151, 172, 1966.
22. Fresenius, W. Schneider, W., Z. anal. Chem., 209, 340, 1965.
23. Krishma-Murti, G.S.R., Moharir, A. V., Sarma, V.A.K., Mikrochem. J., 15, 585, 1970.
24. Asmus, E., Kropp, B., Moszko, F. M., Z. anal. Chem., 256, 276, 1971.
25. Cheng, K. L., Bray, R. H., Anal. Chem., 25, 655, 1953.
26. Vioque, A., Villagran, M., Mikrochim. Acta, 1175, 1964.
27. Kingsley, G. R., Getschel, G., Z. anal. Chem., 155, 396, 1957.
28. Collins, P., Diehl, H., Anal. Chem., 31, 1962, 1959.
29. Mizuno, T., Talanta, 19, 369, 1972.
30. Blair, D., Diehl, H., Talanta, 7, 163, 1961.
31. Watkins, R. M., Weiner, L. M., Zak, B., Mikrochem. J., 16, 14, 1971.
32. Sekine, K., Onishi, H., Anal. Letters, 7, 187, 1974.
33. Armeanu, V., Niculescu, J., Brăsăreanu, D., Rev. Chim. 24, 369, 1973.
34. Hermann, M., Weber, H., Z. Anal. Chem., 267, 13, 1973.
35. Dhond, P. V., Khopkar, S. M., Anal. Chem., 45, 1937, 1973.
36. Gammon, N., Forbes, R.B., anal. Chem., 21, 1391, 1949.
37. Fleury, P., Desjobert, A., Eberhard, R., Chem. Abstr., 50, 14, 437, 1956.
38. Marsmann, W., Das ärztl., Lab. 7, 301, 1961.
39. Warterbury, G. R., Bucker, C. E., Anal. Chem., 29, 129, 1957.

40. Lee, W. F., Shastri, N. K., Amis, E.S., Talanta, 11, 685, 1964.
41. Merill, J. R., Honda, M., Arnold, J. R., Anal. Chem., 32, 1420, 1960.
42. Aly, M. M., Anal. Chem., Acta. 58, 467, 1972.
43. Patil, S. P., Shinde, V. M., Z. anal. Chem., 265, 349, 1973.
44. King, H.G.C., Analyst, 93, 601, 1968.
45. Feigl, F., Krumholtz, P., Mikrochem. Pregl-Festschrift, 1929, 77.
46. Drăgulescu, C., Simionescu, T., Policec, S., Talanta, 11, 747, 1964.
47. Burriel-Marti, Bolle-Tacheo, S., Anal. Chim. Acta., 14, 557, 1956.
48. Karve, V. M., Ind. J. Chem., 3, 537, 1965.
49. Konikowski, T., Farr, L. E., Clin. Chem., 11, 378, 1965.
50. Thiel, A., van Hengel, E., Ber. deutsch. Ges., 71, 1157, 1938.
51. Hernach, F., Coolidge, Th., B., Anal. Biochemistry, 6, 477, 1963.
52. Spare, P. D., Clin. Chemistry, 10, 726, 1964.
53. Testa, C., Anal. Chim. Acta, 25, 525, 1961.
54. Föhring, R., Specker, H., Z. anal. Chem., 264, 378, 1973.
55. Kaiwa, H. A., Jap. Analyst, 12, 457, 1963.
56. De, A. K., Rahman, S. Anal. Chem., 35, 1095, 1963.
57. Wünsch, L., Z. Anal. Chem., 264, 409, 1973.
58. O. G. Koch, Koch-Dedic, G. H., *Handbuch der Spurenanalyse*, 2 Aufl. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1974.
59. Thaler, A., Mühlberger, F. H., Z. anal. Chem., 144, 241, 1955.
60. Bode, H., Z. Anal. Chem., 144, 165, 1955.
61. Zauch, G., Klin. Wschr., 33, 954, 1955.
62. Keil, R., Z. anal. Chem., 258, 97, 1972.
63. Cluett, M. L., Yoe, J. H., Anal. Chem., 29, 1265, 1957.
64. Dal Cortivo, L. A., Cefola, M., Umberger, C.J., Analytic. Biochem., 1, 491, 1960.
65. Luke, C. L., Anal. Chim. Acta, 32, 286, 1965.
66. Analyt. Methods Commitee, Analyst, 88, 253, 1963.
67. Clark, R.G.A., Analyst, 82, 760, 1957.
68. Chan, K. M., Riley, J. P., Anal. Chim. Acta, 36, 220, 1966.
69. Erdey, L., Buzas, J., Mikrochim. Acta, 340, 1962.
70. Corbett, J. A., Anal. Chim. Acta, 30, 126, 1964.
71. Jakobson, E., Langmyhr, F. J., Selmer-Olsen, A. R., Anal. Chim. Acta, 24, 579, 1961.
72. Feigl, F., Neuber, F., Z. anal. Chem., 62, 369, 1923.
73. Agterdenbos, J. ş.a., Talanta, 19, 341, 1972.
74. Leno, H., Kakita, Y., Chem. Abstr., 55, 19000, 1961.
75. Pribil, R., *Complexonii în chimia analitică*, Ed. Tehnică, Bucureşti, 1961.
76. Ciugaev, L., Ber. deutsch. chem. Ges., 38, 2520, 1905.
77. Bradfield, E. G., Analyst, 82, 254, 1957.
78. Pollock, E. N., Zopatti, L. P., Anal. Chim. Acta, 28, 68, 1963.
79. Kentner, E., Zeitlin, H., Anal. Chim. Acta, 49, 587, 1970.
80. Pohl, F. A., Demmel, H., Anal. Chim. Acta, 10, 554, 1954.



81. Nielsch, W., Mikrochim. Acta, 1959, 723.
82. Frink, C. R., Peaslee, D. E., Analyst, 93, 469, 1968.
83. Oklander, M., Klein, B., Clin. Chem., 12, 243, 1966.
84. Headridge, J. B., Richardson, J., Analyst, 94, 968, 1969.
85. Onishi, H., Ishiwatari, N., Talanta, 8, 753, 1961.
86. Madera, J., Anal. Chem., 27, 2003, 1953.
87. Hoenes, H. J., Stone, K. G., Talanta, 4, 250, 1960.
88. Paul, A., Anal. Chem., 35, 2119, 1963.
89. Jacobs, W. D., Yoe, J. H., Anal. Chim. Acta, 20, 332, 1959.
90. Brand, M., Bentz, J. M., Mikrochem. J., 16, 113, 1971.
91. Voloder, K., Ivicic, N., Svigir, B., Mikrochim. Acta, 341, 1971.
92. Saltzmann, B. E., Anal. Chem., 25, 493, 1953.
93. Neno, K., Yano, T., Kojima, T., Anal. Letters, 5, 439, 1972.
94. Howard. J. M., Anal. Chem., 37, 596, 1965.
95. Hayashi, K., Sakaki, Y., Masuda, M., Japan Analyst, 21, 793, 1972; Z. anal. Chem., 263, 353, 1973.
96. Schwarzenbach, G., Senn, H., Anderegg, G., Helv. Chim. Acta, 40, 1886, 1957.
97. Haller, R., Hünsel, W., Pharm. Ztg., 118(21), 786, 1973.
98. Wickenden, A. E., Krause, R. A., Inorg. Chem., 3, 405, 1965.
99. Pavkovic, S. F., Meek, D. W., Inorg. Chem., 4, 1091, 1966.
100. Cotton, F. A., Soderberg, R. H., Goodgame, D.M.L, Inorg. Chem, 2, 1162, 1963.
101. Cotton, F. A., Soderberg, R. H., Am. Chem. Soc., 85, 2402, 1963.
102. Lever, A. B., Inorg. Chem., 4, 1042, 1965.
103. Curtis, N. F., Curtis, Y.M., Inorg. Chem., 4, 804, 1966.
104. Chatt, J., Duncanson, L. A., Lewis, J. J., J. Chem. Soc., 4073, 1959.
105. Goodgame, D.M.L., Hichmann, M. A., Inorg. Chem., 4, 721, 1965; J. Chem. Soc., 1967, 612.
106. Buffagni, S., Valfarino, L. M., Quagliano, J. V., Inorg. Chem., 4, 480, 1964.
107. Joesten, M. D., Nykerk, K. M., Inorg. Chem., 3, 548, 1964.
108. Popp, C. J., Joesten, M. D., Inorg. Chem., 4, 1418, 1965.
109. Nakamoto, K., Carthy, P. J., Martell, A. E., J. Am. Chem. Soc., 83, 1271, 1961.
110. Swallow, A. G., Truter, M. R., Nature, 195, 1278, 1962; Proc-Roy. Soc. A, 245, 205 (1960).
111. Figgis, B. N., Nature, 195, 1278, 1962.
112. Lewis, J., Long, R. F., Oldham, C., J. Chem. Soc., 6740, 1965.
113. Gilson, D., Lewis, J., Oldham., C., J. Chem. Soc., 1453, 1966.
114. Nakamoto, Y., Isobe, K., Morita, H., Yamazaki, S., Kawaguchi, S., Inorg. Chem. 11, 1573, 1972.
115. Bullen, G. L., Moson, R., Pauling, P., Nature, 189, 291, 1961.
116. Martin, B. B., Fernelius, W. C., J. Am. Chem. Soc., 81, 2342, 1959.



117. Fay, R. C., Piper, T. S., J. Am. Chem. Soc., 87, 500, 1963.
118. Dunne, T. G., Cotton, F. A., Inorg. Chem., 2, 263, 1963.
119. Melby, L. R., Rose, N. J., Abramson, E., Caris, J. C., J. Am. Chem. Soc., 86, 5117, 1964.
120. Cox, M., Lewis, J., Nyholm, R. S., J. Chem. Soc., 2840, 1965.
121. Raghava Ray, B.S.V., Ind. J. Chem., 4, 143, 1966.
122. Collman, J. P., Kittelman, E. T., J. Am. Chem. Soc., 83, 3529, 1961.
123. Ciampolini, M., Maggio, F., Cavasino, F. P., Inorg. Chem., 3, 1188, 1964.
124. Chakravorthy, A., Holm, R. H., Inorg. Chem., 3, 1521, 1964.
125. Chakravorthy, A., Inorg. Chem., 4, 127, 1965.
126. Sacconi, L., Nardi, N., Zanolini, F., Inorg. Chem., 5, 1872, 1966.
127. Sacconi, L., Nanneli, P., Campigli, U., Inorg. Chem., 4, 818, 1965.
128. Sacconi, L., Bertini, I., J. Am. Chem., Soc. 88, 5180, 1966.
129. Dwyer, F. P., Gill, N. S., Gyarfas, E. C., Lions, F., J. Am. Chem. Soc., 74, 4188, 1952.
130. Eisenberg, R. J., Ibers, J. A., Gray, B., Clark, R.J.H., J. Am. Chem. Soc., 86, 113, 1964.
131. Forster, J. D., Zalkin, A., Templiton, D. H., Inorg. Chem., 3, 1500, 1964; 3, 1507, 1964.
132. Davison, A., Edelstein, N., Holm, R. H., Maki, A. H., J. Am. Chem. Soc., 86, 2799, 1964.
133. Gray, H. B., Williams, R., Bernal, J., J. Am. Chem. Soc., 84, 3596, 1962.
134. Billig, E., Inorg. Chem., 3, 663, 1864.
135. Davison, A., Edelstein, N., Holm, R. H., Maki, A. H., Inorg. Chem., 3, 814, 1964.
136. Black, A. I., Röhrscheid, A., Holm, R. H., J. Am. Chem. Soc., 87, 2301, 1965.
137. Baker-Hawkes, M. J., Billig, E., Gray, B., J. Am. Chem. Soc., 88, 4870, 1966.
138. Baker-Hawkes, M. J., Dori, Z., Eisenberg, R. Gray, H. B., J. Am. Chem. Soc., 90, 4253, 1968.
139. Browall, K. W., Interrante, L. V., Kasper, J. S., J. Am. Chem. Soc., 93, 6289, 1971.
140. Jensen, K. A., Inorg. anal. Chem., 252, 227, 1944.
141. Chatt, J., Hort, F. A., J. Chem. Soc., 1953, 2363.
142. Livingston, S. E., J. Chem. Soc., 1965, 1994.
143. Jacobs, W. D., Joe, J. H., Anal. Chim. Acta, 20, 332, 1959.
144. Jensen, K. A., Z. Anorg. Chem., 252, 227, 1944.
145. Amone Kane, Pat. USA, 2505085, April, 25, 1950.
146. West, Ph. W., McCoy, Th., Chem. Eng. News, 34, 340, 1956.
147. Schreiner, H., Brantner, H., Hecht, F., Mikrochemie, 36, 37, 1951.
148. Golla, E. D., Ayres, G. H., Talanta, 20, 199, 1973.
149. Feigl, F., Hamburg. H., Z. anal. Chem., 86, 7, 1931.

150. Yamamoto, Y., Kotsuji, K., Bull. Chem. Soc. Japan, 37, 594, 1964.
151. Komarowsky, A. S., Poluektoff, N. N., Mikrochim. Acta, 1, 264, 1937.
152. Gagliardi, E., Presinger, P., Mikrochim. Acta, 1964, 1175.
153. Fries, J., Getrost, H., *Organische Reagenzien für die Spurenanalyse*, E. Merk, Darmstadt, 1975, p. 287.
154. Stephens, B. G., Felkel, H. L., Spinelli, W. M., Anal. Chem., 46, 692, 1974.
155. Watkins, R. M., Weiner, L. M., Zak, B., Mikrochem. J., 16, 14, 1971.
156. Dye, W. B., Bretthauer, E., Seim, H. J., Blincoe, C., Anal. Chem, 35, 1687, 1963.
157. Cummins, L. M., Martin, L. J., Maag, G. W., Maag, D. D., Anal. Chem, 36, 382, 1964 şi 37, 430, 1965.
158. Foog, A. G., Burges, C., Burns, D. T., Analyst, 98, 347, 1973.
159. Ripan, R., Popper, E., Liteanu, C., *Chimie analitică calitativă, Semimicroanaliza*, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1961.
160. Roman, L., Crăciuneanu, R., Florean, E., Pitea, I., Marcu, P., Chiorean, L., Şerban, M., Bojiţă, M., *Lucrări practice de chimie analitică calitativă* Lito. I.M.F. Cluj-Napoca, 1975.
161. Asmus, E., Kurzman, P., Z. anal. Chem., 228, 161, 1967.
162. Seibold, M., Klin. Wschr., 38, 117, 1960.
163. Luke, C. L., Anal. Chem., 28, 1276, 1956.
164. Rajkovic, D., Z. Anal. Chem., 263, 334, 1973.
165. Goldstein, G., Manning, D. L., Menis, O., Anal. Chem., 30, 539, 1958.
166. Feigl, F., Anger, V., *Spot Test in Inorganic Analysis*, Sixth Edition, Elsevier Publishing Comp., Amsterdam, London, New York, 1972.
167. Eistert, B., Bock, G., Angew. Chem., 70, 595, 1958.
168. Morin, M., Scharff, J. P., Anal. Chim. Acta, 60, 101, 1972.
169. Wakamatsu, Y., Otomo, M., Bull. Chem. Soc. Japan, 45, 2764, 1972; ref. Z. Anal. Chem., 268, 235, 1974.
170. Faber, J. S., Z. anal. Chem., 154, 223, 1957.
171. Ashton, A., Foog, A. G., Thorburn Burns, D., Z. anal. Chem., 264, 133, 1973.
172. Looyenga, R. W., Boltz, D. F., Talanta, 19, 82, 1972.
173. Dubsky, J. V., Okak, A., Z. anal. Chem., 96, 267, 1934.
174. Majumdar, M. K., Chakkrabartty, M. M., Anal. Chim. Acta, 19, 372, 1958.
175. Dittel, F., Z. anal. Chem., 228, 412, 1967.
176. Farnsworth, M., Pekole, J., J. anal. Chem., 26, 735, 1954.
177. Perez-Bustamante, J. A., Delgado, F. P., Analyst, 96, 407, 1971.
178. Baron, H., Z. anal. Chem., 143, 339, 1954.
179. Raber, H., Likusarr, W., Mikrochim. Acta, 92, 1972.
180. Kuczerpa, A. V., Anal. Chem., 40, 581, 1968.
181. Tomioka, H., Japan Analyst, 12, 271, 1963; ref. Z. anal. Chem., 210, 132, 1965.

182. Pohl, H., Z. anal. Chem., 155, 263, 1957.
183. Chromy, V., Sommer, L., Talanta, 14, 393, 1967.
184. Pollard, F. H., Hanson, P., Geary, W. J., Anal. Chim. Acta, 20, 26, 1959.
185. Siroki, M., Djorjevic, C., Anal. Chim. Acta, 57, 301, 1971.
186. Watanabe, H., Talanta, 21, 295, 1974.
187. Asmus, V., Jahny, J., Z. anal. Chem., 259, 269, 1972.
188. Kozlicka, M., Wojtowicz, M., Z. anal. Chem., 257, 191, 1971.
189. Kiser, W., Arch. Toxikol., 20, 108, 1963.
190. Wyatt, R. F., Analyst, 80, 368, 1955.
191. Dahl, J., Anal. Chim. Acta, 62, 145, 1972.
192. Nightingale, E., anal. Chem., 31, 146, 1959.
193. Frumina, N. S., Mustafin, I. S., Nikuroshina, M. L., Vechera, M. K., Talanta, 16, 138, 1969.
194. Wattkins, R. M., Weiner, L. M., Zak, B., Mikrochem. J., 16, 14, 1971.
195. Schubert, M. P., J. Am. Chem. Soc., 53, 3851, 1931; 54, 4017, 1932; 55, 4563, 1933.
196. Feigl, F., Z. anal. Chem., 74, 380, 1928.
197. Jangg, G., Z. anal. Chem., 133, 255, 1961.
198. Roman, L., Florean, E., Vasu, L., Clujul Medical, XLIX, 2, 259, 1976.
199. Perrin, D. D., *Masking and demasking of chemical reaction*, Wiley-Interscience, New York, Sydney, Toronto, 1970.



CAPITOLUL 3

STABILITATEA COMBINAȚIILOR COMPLEXE

Formularea combinațiilor complexe se face ținînd seama de numărul de coordinare, respectiv de numărul de legături dintre ionul generator de complex și liganzi. Numărul de coordinare variază în principal în funcție de structura electronică a ionilor generatori de complecși, precum și în funcție de natura liganzilor, condițiile de formare, factori sterici etc. Cele mai frecvente valori ale numărului de coordinare sînt 2 (Ag, Au, Cu(I), etc), 4 (Be, B, Al, Zn, Cd, Hg, Mn, Cu(II) etc) și 6 (Fe(II), Fe(III), Co(II și III), Ni(II și III), Pt(IV), Cr(III) etc). Alte valori ale numărului de coordinare (3,5,7,8 etc) sînt mult mai rare.

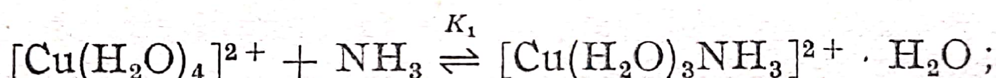
În general, reacțiile cu formare de complecși sînt reacții de echilibru, iar deplasarea acestuia într-un sens sau altul este o dovadă a stabilității sau a instabilității complecșilor.

Stabilitatea combinațiilor complexe depinde de numeroși factori , dintre care unii vor fi analizați mai departe. Stabilitatea complecșilor depinde de natura ionului generator de complex, adică de unele însușiri ale acestuia (structura electronică, capacitatea de polarizare, polarizabilitatea, raza ionică etc), de natura și însușirile liganzilor (sarcina electrică, dipolmoment, polarizabilitate, bazicitate etc), de formarea ciclurilor chelate, de structura spațială și de unele impedimente sterice etc. De la caz la caz, influența unuia sau a altuia dintre factorii enumerați asupra stabilității este preponderentă. Spre exemplu, complexul cationic $Ca(NH_3)_6^{2+}$ se descompune ușor în apă, formîndu-se complexul cationic $Ca(H_2O_6)_6^{2+}$ mai stabil, deoarece apa are un dipolmoment mai mare decît amoniacul (iar ionul de calciu este un polarizant slab). În schimb, complexul cationic $Cu(H_2O)_4^{2+}$, existent în soluție apoasă, se transformă ușor, prin adaos de amoniac, în complexul cationic $Cu(NH_3)_4^{2+}$ mai stabil. Aceasta deoarece, în cazul complecșilor cationilor cu structură electronică a învelișului exterior de 8—18 e^-, rolul preponderent în determinarea stabilității nu-l mai are dipolmomentul ci polarizabilitatea ligandului și acțiunea polarizantă și polarizabilitatea ionilor generatori de complecși. Desigur că în cazul complec-

şilor ionilor cu structură mai complicată, explicarea stabilităţii şi a formării lor trebuie să ţină seama de mai mulţi factori printre care şi de relaţiile de simetrie dintre partenerii de reacţie.

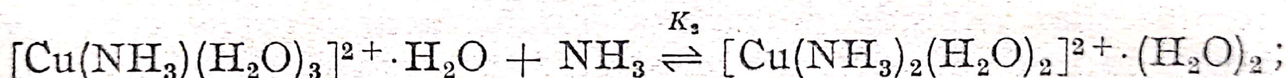
3.1. CONSTANTA DE STABILITATE

Stabilitatea complecşilor se apreciază cantitativ pe baza constantelor de stabilitate (sau de formare). Pe de altă parte, trebuie avut în vedere că formarea complecşilor cu liganzi anorganici decurge în trepte, prin substituirea succesivă a moleculelor de solvent, ce solvatează ionul metalic, cu molecule de ligand. De aceea pentru fiecare specie complexă, se poate scrie constanta parţială de stabilitate, iar constanta generală de stabilitate se calculează prin înmulţirea constantelor parţiale. Spre exemplu, în cazul complexului cationic $Cu(NH_3)_4^{2+}$, formarea în trepte are loc astfel:



$$[Cu(H_2O)_4]^{2+} + NH_3 \overset{K_1}{\rightleftharpoons} [Cu(H_2O)_3NH_3]^{2+} \cdot H_2O;$$

$$K_1 = \frac{[Cu(NH_3)(H_2O)_3^{2+}]}{[Cu(H_2O)_4^{2+}][NH_3]}$$



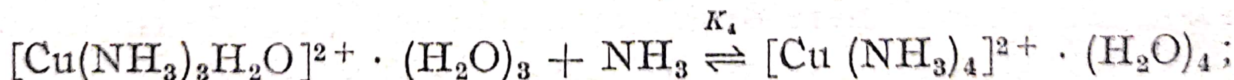
$$[Cu(NH_3)(H_2O)_3]^{2+} \cdot H_2O + NH_3 \overset{K_2}{\rightleftharpoons} [Cu(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+} \cdot (H_2O)_2;$$

$$K_2 = \frac{[Cu(NH_3)_2(H_2O)_2^{2+}]}{[Cu(NH_3)(H_2O)_3^{2+}][NH_3]}$$



$$[Cu(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+} \cdot (H_2O)_2 + NH_3 \overset{K_3}{\rightleftharpoons} [Cu(NH_3)_3H_2O]^{2+} \cdot (H_2O)_3;$$

$$K_3 = \frac{[Cu(NH_3)_3H_2O^{2+}]}{[Cu(NH_3)_2(H_2O)_2^{2+}][NH_3]}$$



$$[Cu(NH_3)_3H_2O]^{2+} \cdot (H_2O)_3 + NH_3 \overset{K_4}{\rightleftharpoons} [Cu(NH_3)_4]^{2+} \cdot (H_2O)_4;$$

$$K_4 = \frac{[Cu(NH_3)_4^{2+}]}{[Cu(NH_3)_3H_2O^{2+}][NH_3]}$$

iar constanta generală de stabilitate este:

$$K_{stab} = K_1 \cdot K_2 \cdot K_3 \cdot K_4 = \frac{[Cu(NH_3)_4^{2+}]}{[Cu(H_2O)_4^{2+}][NH_3]^4}$$

Stabilitatea complecşilor se poate aprecia şi prin constanta de instabilitate (sau de descompunere) care este inversă constantei de stabilitate:

$$K_{instab.} = \frac{1}{K_{stab}} = \frac{[Cu(H_2O)_4^{2+}][NH_3]^4}{[Cu(NH_3)_4^{2+}]} = 4{,}6 \cdot 10^{-14}$$

Cu cît constanta de instabilitate este mai mică, cu atît un complex este mai stabil şi invers.

Complecşii chelaţi se formează într-o singură treaptă. Pentru a forma complecşi chelaţi, ionii generatori de complecşi trebuie să aibă mai multe puncte coordinative, iar liganzii să conţină cel puţin două grupe funcţionale (deci doi atomi donori), capabile de a forma cel puţin două legături cu generatorul de complex, rezultînd astfel un ciclu chelat. Grupările funcţionale (atomii donori) trebuie să ocupe în molecula ligandului anumite poziţii reciproce favorabile chelatării. Spre exemplu, acidul salicilic, poate forma chelaţi cu Fe(III) (Fig. 3.I), deoarece cele două grupe funcţionale sînt suficient de apropiate, dar acidul p-hidroxibenzoic nu poate chelata fierul, cele două grupe funcţionale fiind prea depărtate una de alta.

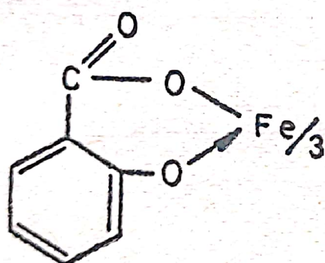


Fig. 3.I. $[Fe(sal)_3]^{3-}$

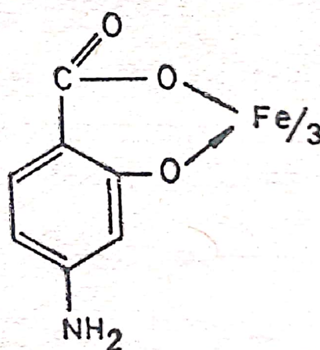


Fig. 3.II. $[Fe(PAS)_3]^{3-}$

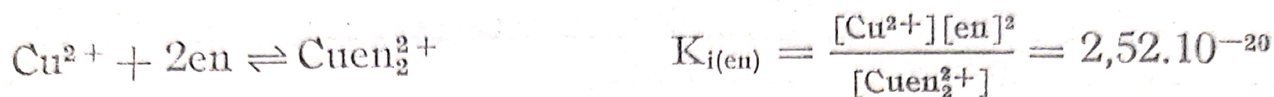
Dacă un ligand conţine mai multe grupe funcţionale, la formarea chelaţilor participă numai acelea care ocupă poziţii reciproce avantajoase chelatării. Astfel, acidul p-aminosalicilic are trei grupe funcţionale, dar la formarea chelatului său cu Fe(III), grupa amino mai depărtată nu ia parte(Fig. 3.II). Pe de altă parte, dacă un ligand prezintă izomeri geometrici, numai izomerii cis sînt capabili de chelatare (exemplu, acidul maleic poate forma uşor chelaţi spre deosebire de acidul fumaric).

Constantele de stabilitate şi de instabilitate ale chelaţilor arată o stabilitate mult mai mare a acestora, decît aceea a complecşilor aceloraşi ioni generatori cu liganzi monodentaţi, care nu pot forma cicluri chelate. Creşterea stabilităţii chelaţilor se

datorește unui efect entropic determinat de procesul de chelatare. Pentru exemplificare se iau în considerare reacțiile de formare a complecșilor cationici $Cu(NH_3)_4^{2+}$ și $Cuen_2^{2+}$ (en fiind etilendiamina, ligand bidentat):



$$Cu^{2+} + 4NH_3 \rightleftharpoons Cu(NH_3)_4^{2+} \qquad K_i = \frac{[Cu^{2+}][NH_3]^4}{[Cu(NH_3)_4^{2+}]} = 4{,}6.10^{-14}$$



$$Cu^{2+} + 2en \rightleftharpoons Cuen_2^{2+} \qquad K_{i(en)} = \frac{[Cu^{2+}][en]^2}{[Cuen_2^{2+}]} = 2{,}52.10^{-20}$$

Dacă se notează constantele de instabilitate ale celor doi complecși cationici cu K_{NH_3} și K_{en}, iar cu $\Delta F°$, $\Delta H°$ și $\Delta S°$, variațiile energiei libere, entalpiei și a entropiei, se pot scrie, pentru cele două reacții de mai sus, ecuațiile:

$$\Delta F^\circ_{NH_3} = -RT \ln K_{NH_3} = \Delta H^\circ_{NH_3} - T\Delta S^\circ_{NH_3}$$

și

$$\Delta F^\circ_{en} = -RT \ln K_{en} = \Delta H^\circ_{en} - T\Delta S^\circ_{en}$$

Aceste ecuații se mai pot scrie și astfel:

$$\Delta H^\circ_{NH_3} = T\Delta S^\circ_{NH_3} - RT \ln K_{NH_3}$$

și

$$\Delta H^\circ_{en} = T\Delta S^\circ_{en} - RT \ln K_{en}$$

Avînd în vedere că ambii complecși se formează numa prin legături coordinative (deci de același tip), se poate aproxima că $\Delta H^\circ_{NH_3} = \Delta H^\circ_{en}$, astfel că se poate scrie:

$$T\Delta S^\circ_{en} - RT \ln K^\circ_{en} = T\Delta S^\circ_{NH_3} - RT \ln K_{NH_3}$$

sau: $$\Delta S^\circ_{en} - \Delta S^\circ_{NH_3} = R \ln \frac{K_{en}}{K_{NH_3}}$$

Prin urmare, deoarece $K_{en} > K_{NH_3}$ și $\Delta S^\circ_{en} > \Delta S^\circ_{NH_3}$, rezultă că stabilitatea mai mare a complexului cationic chelat $Cuen_2^{2+}$, se datorește unui efect entropic, adică unei variații mari a entropiei, variație determinată de forma celor două cicluri pentaatomice stabile [1] (Fig. 3. III).

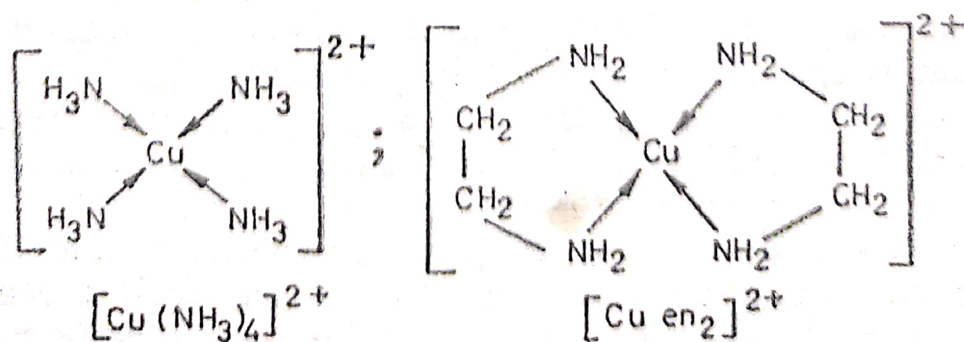


Fig. 3. III

Pe de altă parte, o estimare a stabilității chelaților se poate face ținînd seama de afinitatea relativă a atomilor donori față de ionii generatori de complecși [2, 3]. Așa se poate explica afinitatea mai mare a unor cationi (Cu(II), Au(III), Ni(II), Fe(II,III), Co(II) etc), față de atomii donori de oxigen și azot respectiv față de liganzi care conțin astfel de atomi, ca și afinitatea mai mare a altor cationi (Ag(I), Au(I), Hg(I), Pb(II), Bi(III), etc) față de atomi donori de sulf. În fond, aci este vorba de tăria legăturii metal-ligand, care este funcție de afinitatea generatorului de complex pentru electroni și de bazicitatea ligandului. În cazurile complecșilor cationici discutați mai sus, ambii conținînd același generator de complex, afinitatea pentru electroni a acestuia (adică a ionului de cupru) nu se pune în discuție. Pe de altă parte, bazicitatea etilendiaminei ($K_1 = 2,88 \cdot 10^{-5}$) este ceva mai mare decît aceea a amoniacului ($K = 1,79 \cdot 10^{-5}$). Rezultă că o creștere a stabilității complexului chelat, de cca cinci sute de mii de ori, față de aceea a complexului amoniacal, nu se poate explica decît prin efectul entropic menționat mai sus. În cazul chelaților metalelor reprezentative (netranziționale), stabilizarea prin chelatare se explică printr-un efect pur entropic, așa cum s-a arătat, în timp ce în cazul metalelor tranziționale, stabilizarea chelaților se explică parțial printr-un efect entropic, parțial prin efect entalpic [4]. În general, efectul de chelatare este mai mare la complecșii metalelor tranziționale decît la cei ai metalelor netranziționale [31].

Caracterizarea echilibrelor de complexare se face mai corect cu ajutorul constantelor condiționale (care se dau mai departe) și care permit alegerea condițiilor optime pentru realizarea reacțiilor de complexare.

3.2. COMPLECȘI INERȚI ȘI LABILI

În general, în cazul complecșilor se poate vorbi de o stabilitate efectivă, caracterizată prin constanta de stabilitate, și despre o stabilitate relativă față de alți liganzi sau reactivi. Spre exemplu, complexul cationic $Cu(H_2O)_4^{2+}$, există în soluție atîta timp cît nu se adaugă alți liganzi sau reactivi. Dacă însă la soluția acestui complex se adaugă amoniac, moleculele de apă sînt înlocuite, cu viteză foarte mare, cu molecule de amoniac conform reacției :



$$Cu(H_2O)_4^{2+} + 4\,NH_3 \rightarrow Cu(NH_3)_4^{2+} + 4\,H_2O$$

Rezultă că acvocationul complex, este labil. Dacă însă, la soluția intensă colorată în albastru obținută, se adaugă cianură de potasiu, moleculele de amoniac sînt înlocuite cu ioni de cianură, rezultînd un complex anionic mai stabil, iar soluția se decolorează (prin urmare acest lucru se poate explica prin diferența dintre constantele de stabilitate ale celor doi complecși, $K_{NH_3} = 4,6.10^{-14}$ și $K_{CN^-} = 5 \cdot 10^{-28}$) ;



$$Cu(NH_3)_4^{2+} + 4\,CN^- \rightarrow Cu(CN)_4^{2-} + 4NH_3$$

Noul complex este cu mult mai stabil decît primii doi, iar ionul Cu(II) nu mai poate fi precipitat din $Cu(CN)_4^{2-}$ nici cu sulfură. Prin urmare, din acest punct de vedere complexul anionic poate fi considerat un complex inert, iar complecșii cationici discutați mai sus sînt labili.

Denumirea de complecși inerți și labili a fost propusă de Taube[5] pentru a diferenția reactivitatea complecșilor, în funcție de reacțiile de substituție pe care le dau cu o anumită viteză [6]. După Taube, complecșii la care substituirea liganzilor se face în mai puțin de un minut la 25 °C sînt labili, iar cei la care substituția se face mai încet sînt considerați inerți.

Labilitatea unui complex nu trebuie să fie confundată cu instabilitatea și invers. Reacții de substituție pot avea loc și în cazul complecșilor termodinamic foarte stabili și invers. Prin urmare labilitatea și inerția se referă la viteza reacțiilor de schimb și nu la stabilitatea efectivă a complecșilor. Sau altfel spus, labilitatea complecșilor depinde de energia de activare. O energie de activare mică (diferența de energie dintre reactanți și complexul activat) este caracteristică complecșilor labili și invers, în timp ce instabilitatea este determinată de diferența dintre entalpiile libere ale reactanților și a produsului de reacție.

3.3. REACTIVITATEA LIGANZILOR COORDINAȚI

Liganzii coordinați au reactivitate diferită de aceea a liganzilor liberi, putînd fi mai mare sau mai mică decît aceasta din urmă. Micșorarea sau creșterea reactivității liganzilor se datorește ionului metalic, care exercită asupra liganzilor efecte stereochimice, efecte de polarizare sau ambele efecte. Efectul stereochimic constă în fixarea ligandului într-o poziție de protejare

a grupărilor mai labile ale acestuia față de un agent chimic și astfel are loc o scădere a reactivității ligandului. Așa, de exemplu, anionul oxalat se oxidează mai greu decît oxalatul liber. Sau, tot printr-un efect stereochimic (care pare a fi predominant), ionul metalic poate ușura o rearanjare internă a ligandului, favorabilă unei reacții ce nu se poate realiza altfel. Acest efect este demonstrat de numeroasele reacții template, cu aplicații practice din cele mai diverse [7]. Ionii metalici ușurează, prin efect stereochimic, unele reacții de cuplare, care, în absența ionilor metalici, nu au loc, cum este cazul cuplării 1,3-propilendiaminei cu α-dicetone (exemplu, 2,3-butandiona, 2,3-pentandiona etc), care nu are loc decît în prezența ionului Ni(II) [8], cînd rezultă baze Schiff (Fig. 3. IV).

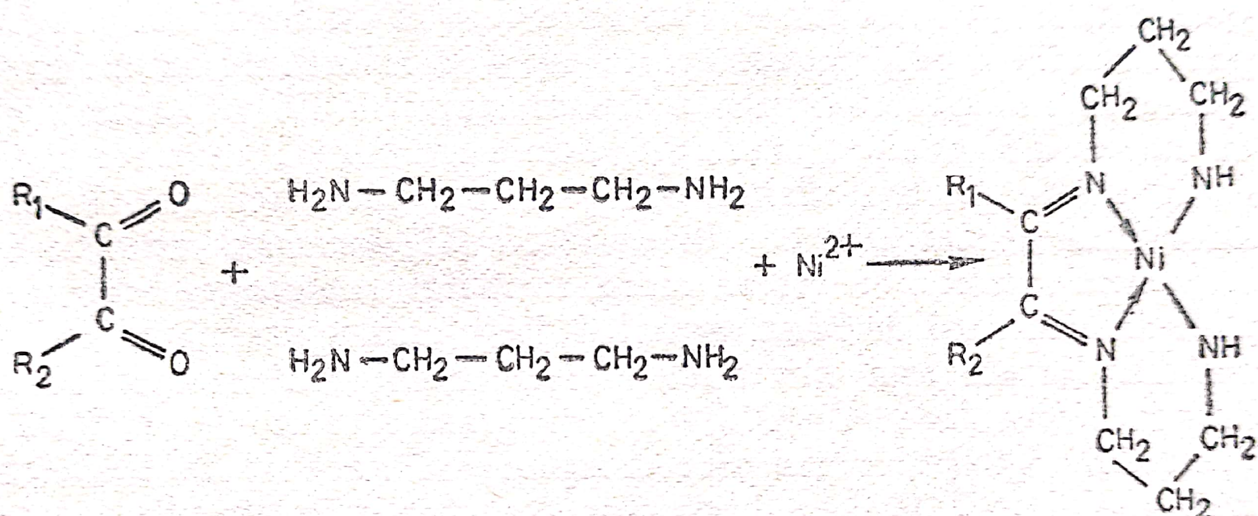


Fig. 3.IV. Formarea unor baze Schiff în prezența Ni(II).

Dealtfel, exemplele de baze Schiff obținute în prezența unor ioni metalici sînt numeroase [9—12]. Pe de altă parte, obținerea bazelor Schiff în acest fel prezintă importanță și din punct de vedere biochimic, deoarece bazele Schiff intervin în metabolismul proteic prin faptul că reacția de condensare a aminoacizilor cu piridoxal (vit. B_6), din care rezultă o aldimină, adică o bază Schiff [13], determină activarea inițială a aminoacizilor.

În aceeași ordine de idei, sinteza complecșilor metalici cu liganzi macrociclici se explică tot prin efect stereochimic, adică prin reacții template. Sinteza complecșilor metal-ftalocianină decurge mai ușor decît obținerea ftalocianinei bază liberă, iar unii chelați naturali, cum sînt hemoglobina, clorofila, vitamina B_{12} etc, sînt sisteme complexe macrociclice. De aceea, complecșii macrociclici sintetici pot servi ca modele de studiu pentru sistemele macrociclice naturale.

Efectul de polarizare se explică prin perturbarea sistemelor electronice ale grupărilor active din liganzi, ceea ce ușurează și determină o anumită orientare a reacțiilor [14].

Aceste efecte ale ionului metalic asupra liganzilor explică multe reacții care au loc în prezența ionilor metalici. Spre exemplu, cetonele α, β-nesaturate (de tipul —C = C—) coordinate dau mai ușor reacții de adiție decît în stare liberă [15], acetonitrilul [16] coordinat și esterii aminoacizilor [17, 18] hidrolizează mai ușor în prezența unui cation bivalent, iar β-mercaptoaminele coordinate se pot transforma în tioeterii (chelați) corespunzători, fără a avea loc ruperea legăturii metal-sulf [14,17].

Foarte interesantă și utilă din punct de vedere practic, este posibilitatea modificării vitezei unor reacții cu formarea de complecși dacă din reacție rezultă complecși micști. Spre exemplu, viteza de reacție la formarea ditizonatului de Ni (II) este mică, de aceea ditizona ca atare nu este considerată ca un reactiv caracteristic pentru nichel. În prezența piridinei însă (sau a altor baze organice ce conțin azot) Ni (II) formează cu ditizona un complex mixt, cu viteză mare, fapt datorat creșterii reactivității determinată de baza organică [19], care ușurează înlocuirea moleculelor de apă din sfera de coordinare a nichelului, cu ditizonă. Sau, ionul $Cu(OH)^+$ reacționează mai repede cu EDTA decît $Cu(H_2O)_4^{2+}$, în timp ce complecșii Cu-acetat reacționează mult mai lent [20]. În schimb, ionul acetat mărește viteza reacției de formare a ditizonatului de zinc, ceea ce permite separarea zincului de nichel prin extracție [21].

De remarcat că numeroși complecși ai metalelor tranziționale au o activitate catalitică (selectivă) remarcabilă pentru anumite reacții [22,23, 24], ceea ce se explică prin capacitatea metalelor tranziționale de a forma cu liganzii legături σ și π (facilitînd unele rearanjări interne ale moleculelor liganzilor). În acest fel se produce o stabilizare a unor părți ale moleculelor sau a unor intermediari formați în aceste reacții. Pe de altă parte, legăturile dintre metalele tranziționale și atomii de carbon și de hidrogen sînt labile, iar reacțiile în care intervin compuși cu astfel de legături decurg ușor. Complecșii pot cataliza reacții cu transfer de electroni, reacții acid-bază, de polimerizare și oligomerizare (catalizate de acizi slabi), unele reacții templante etc. [23]. Exceptînd reacțiile templante, în care ionul metalic aduce moleculele în condiții favorabile de reacție, în celelalte reacții menționate, ionii metalici participă la formarea sau la ruperea unor legături metal-substrat.

3.4. FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ STABILITATEA COMPLECȘILOR

Factorii de care depinde stabilitatea complecșilor sînt în principal însușirile fizico-chimice ale ionului generator de complex (dependente la rîndul lor de structura sa electronică) și ale ligandului (dependente în mare măsură de structura sa și de natura atomilor donori pe care-i conține). La acești doi factori se mai adaugă efectele sterice, cu contribuție însemnată la stabilizarea sau labilizarea unui complex.

3.4.1. Influența ionului generator de complex

Structura electronică a ionului generator de complex determină acțiunea polarizantă, polarizabilitatea, natura legăturilor, forma geometrică a complecșilor, însușirile magnetice și optice etc. Întrucît ionii metalici au structuri electronice diferite, este de așteptat o diferență semnificativă a stabilității complecșilor cu anumite tipuri de liganzi.

În funcție de stabilitatea complecșilor cu liganzi ce conțin atomi donori de azot și oxigen, cationii se pot împărți în trei grupe (Sidgwick [3]), împărțire care este dealtfel asemănătoare celei date la capacitatea cationilor de a forma complecși.

Din prima grupă fac parte cationii cu configurație electronică de gaz rar sau care au un număr mic de electroni d, și care formează cei mai stabili complecși cu liganzi cu oxigen donor: Mg (II), Ca (II), Sr(II), Ba(II), Al(III), Tl(III), Sn(IV), V(V), Mo(VI), U(VI), Fe(III) etc. În cadrul grupei se pot face subclasificări, în funcție de natura legăturilor din complecși: Al (III) formează complecși în care predomină legăturile ionice, iar în cazul complecșilor Tl(III), predomină legăturile covalente(deci acesta coordinează mai ales cu liganzi ușor polarizabili).

Din grupa a doua fac parte ionii metalici, care au aproximativ aceeași afinitate față de liganzii cu atomi donori de oxigen și de azot, prin urmare și stabilitățile complecșilor cu astfel de liganzi sînt cam de același ordin de mărime. Este vorba despre ionii Be (II), Fe(II), Pd(II), Cr(III), Ru(III), Rh(III), Os(IV), Ir (IV), Pt(IV).

Din grupa a treia fac parte ionii cu substraturi d complete sau aproape complete și care formează cei mai stabili complecși cu liganzi cu atomi de azot donori (mai polarizabili): Cu(I), Cu(II), Ag(I) Cd(II), Hg(II), Co(II), Ni(II), Zn(II), deci este

vorba despre ioni puternic polarizanţi. Unii dintre aceştia coordinează şi cu liganzi cu sulf donor, formînd de asemenea complecşi stabili. Incadrarea ionului Fe(III) în prima grupă se explică prin aceea că, avînd o structură d^5, el nu are o energie destabilizare a cîmpului cristalin [11], spre deosebire de ionii grupei a treia, pentru care energia de stabilizare a cîmpului cristalin este semnificativă.

3.4.2. Influenţa ligandului

Tăria legăturii metal-ligand este strîns legată de stabilitatea complecşilor şi este determinată (aproximativ) de aceeaşi factori care determină şi tăria bazică a liganzilor, adică tăria legăturii ligand-H, ce are loc în procesul de protonare a ligandului. Datorită acestui fapt, între constantele generale de stabilitate (K_t sau β) ale complecşilor unui ion metalic cu liganzi înrudiţi şi tăria bazică a ligandului (K_H), există o relaţie liniară:

$$\log \beta \approx a\ (-\log K_H) + b$$

În această relaţie a şi b sînt nişte constante. Din această relaţie rezultă că există un paralelism între bazicitatea unui ligand şi stabilitatea complexului său cu un ion metalic. Constanta b se poate utiliza după unii autori [28] la aprecierea gradului de caracter π al legăturii metal-ligand, deşi constanta b depinde între altele de poziţia substituenţilor [29], care pot afecta în mare măsură interacţiunile electronice metal-ligand. Aşa de exemplu, substituenţii influenţează bazicitatea liganzilor, însuşirile sale π acceptoare etc [30].

Un alt mod în care ligandul poate influenţa stabilitatea complecşilor este efectul de chelatare, al cărui rol a fost deja discutat. Pentru ca un ligand să poată forma chelaţi, el trebuie să aibă cel puţin doi atomi donori, aşezaţi într-o astfel de poziţie reciprocă încît să se poată lega de acelaşi ion generator de complex, cînd se formează unul sau mai multe cicluri chelate. Odată cu creşterea numărului de cicluri chelate, creşte şi stabilitatea complexului chelat, fapt dovedit de creşterea stabilităţii complecşilor chelaţi în ordinea: $Men_2 < Mtrien < Mpenten$, pentru care numărul ciclurilor creşte de la două la patru şi respectiv cinci. Termenul de efect chelat a fost introdus de Schwarzenbach [4] şi el se poate exprima prin diferenţa dintre logaritmii constantelor de stabilitate a complexului chelat şi constanta generală de stabilitate a unui complex al aceluiaşi ion generator

cu liganzi monodentați (stabilitatea chelaților este cu mai multe ordine de mărime mai mare decît aceea a complecșilor cu liganzi monodentați). Stabilizarea complecșilor prin efectul de chelatare al liganzilor se explică prin modificări entropice, determinate de înlocuirea de către o moleculă de ligand polidentat, a mai multor molecule de apă ce solvatează ionul metalic în soluție. Spre exemplu, în cazul reacției unui complex hexaacvocationic cu EDTA:



$$[M(H_2O)_6]^{2+} + Y^{4-} = MY^{2-} + 6\,H_2O$$

sînt eliberate șase molecule de apă, deci crește numărul particulelor independente, ceea ce determină o creștere a entropiei, care, la rîndul, ei, determină o creștere însemnată a stabilității.

Formarea și stabilizarea complecșilor chelați este favorizată și de efectul de stabilizare al cîmpului ligandului, știut fiind că forța cîmpului liganzilor polidentați este mai mare decît aceea a liganzilor monodentați (exemplu, etilendiamina și amoniacul). Aceasta se explică prin faptul că stabilizarea cîmpului unui ligand polidentat determină creșterea entropiei în procesul de chelatare, ceea ce se traduce printr-o creștere a stabilității complecșilor chelați ai metalelor tranziționale [31].

Stabilitatea complecșilor chelați depinde și de mărimea ciclului chelat. Cele mai stabile cicluri sînt de regulă cele de cinci și de șase atomi (membrii) [32], deoarece aceste cicluri au tensiunea cea mai scăzută.

În sfîrșit, formarea și stabilitatea complecșilor este influențată și de structura ligandului, care poate favoriza formarea unor complecși de o anumită simetrie.

3.4.3. Influența efectelor sterice

În general, însușirile deosebite ale liganzilor organici se explică prin existența în molecula lor a grupelor funcționale care asigură formarea legăturilor cu ionii metalici, precum și prin existența unor grupări analitice active (auxocromi). Cele mai importante grupe funcționale (analitice), sînt acelea care conțin atomi donori de oxigen (hidroxil, carboxil, enolat $-O^-$, eter, carbonil etc), azot (amino, diazo, nitril, heterociclii cu azot etc) și sulf (tiol, tioeter, disulfură etc). Grupările analitice active sînt de regulă substituenți care pot să determine o intensificare a culorii complecșilor, o scădere a solubilității lor în apă, dar o creștere a solubilității lor în solvenți organici etc. Substituenții au și un efect de îngreunare a moleculei, contribuind la crește-

rea greutății moleculare, deci la sensibilitatea reacțiilor. Dar trebuie avut în vedere că introducerea în moleculă liganzilor a unor substituenți este însoțită de anumite efecte sterice. În general, una dintre condițiile formării unui complex stabil constă în suprapunerea orbitalilor electronici nedistribuiți ai ionului generator de complex, cu orbitalii electronilor ligandului care pot fi donați. Dacă această suprapunere nu este posibilă din cauza unor efecte sterice, complexul nu se mai formează, sau dacă se formează, el nu este stabil. De regulă, efectele, respectiv impedimentele sterice, apar mai ales în cazul complecșilor metalici cu liganzi chelatanți, fiind determinate chiar de schimbări mai puțin importante în molecula ligandului. Acest fapt se poate exemplifica prin reacția ionului Fe(II) cu doi liganzi înrudiți și anume 1,10-fenantrolina și 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina. În timp ce ionul Fe(II) formează, cu trei molecule din primul ligand, un chelat roșu (cu spin jos) foarte stabil (raport 1:3), același ion nu poate forma cu al doilea ligand un complex 1:3 din motive sterice; dar este steric posibilă formarea unui complex 1:2, care însă, avînd spin înalt, este incolor și instabil. Această comportare se datorește celor două grupe metil din pozițiile 2,9 ale 2,9-dimetil-1,10-fenantrolinei, care împiedică formarea complexului octaedric 1:3 (neputînd intra în sfera de coordinare a ionului fier (II) trei molecule din acest ligand). În schimb, grupele metil nu împiedică coordinarea a două molecule din acest ligand, cu ionul Cu (I), rezultînd un complex tetraedric, iar prin caracterul lor nucleofil, grupele metil măresc bazicitatea ligandului, ceea ce determină o stabilizare a complexului.

Din exemplele date rezultă că pentru a forma un complex chelat, liganzii trebuie să se aranjeze într-o anumită simetrie în jurul ionului generator de complex, aranjare care poate fi împiedicată de anumiți substituenți. În cazul de mai sus, grupele metil nu stînjenesc aranjarea tetraedrică a celor două molecule de ligand în jurul ionului Cu(I) [33] (cu configurație sp^3), dar stînjenesc, respectiv împiedică aranjarea octaedrică a trei molecule de ligand în jurul ionului Fe(II) (configurație d^2sp^3 sau sp^3d^2). Așa se explică de ce liganzii cuproinici (cuproina, neocuproina, batocuproina) sînt liganzi foarte buni pentru Cu(I) [34], dar nu și pentru Fe(II).

Din aceste puncte de vedere sînt foarte interesanți liganzii porfirinici, deoarece în spațiul din centrul ligandului nu poate pătrunde orice ion metalic, formarea complecșilor cu astfel de liganzi fiind condiționată de raza ionului generator de complex. Unii cationi, cum sînt Pb(II) și Hg(II), nu pot intra în acest

spațiu liber din centrul ligandului avînd rază ionică prea mare (1,21 Å respectiv 1,10Å). De asemenea nu pot fi complexați cu asemenea liganzi nici ionii metalici cu rază ionică foarte mică, deoarece rigiditatea ligandului împiedică apropierea atomilor donori de acești ioni metalici mici și deci și coordinarea [35]. În schimb, poate fi complexat ionul Fe(II) a cărui rază este de 0,75 Å. Prin urmare, din aceste considerente, liganzii porfirinici au o mare selectivitate. Rezultă de asemenea că în aceste din urmă cazuri impedimentele sterice se datoresc mărimii ionilor metalici.

Avînd în vedere că stabilitatea complecșilor depinde de capacitatea ligandului de a „respecta" aranjarea stereochimică preferată în sfera de coordinare a unui ion generator de complex, rezultă că stabilitatea complecșilor este cu atît mai mare cu cît centrele de legare ale ligandului, disponibile pentru complexare, se potrivesc mai bine cu stereochimia preferată a generatorului. Spre exemplu, se știe că ionul de Ag(I) formează de regulă complecși liniari, prin urmare , complecșii săi cu liganzi polidentați, cum este EDTA, este firesc să fie mai puțin stabili decît complecșii cu liganzi monodentați, deoarece liganzii polidentați nu pot răspunde preferinței acestui ion pentru structura stereochimică liniară. Acest fapt poate servi la determinarea Ag(I), în prezența unor ioni bivalenți sau trivalenți, care pot fi mascați cu EDTA. Pe de altă parte, deși ciclurile chelate de cinci atomi sînt cele mai stabile, complecșii Ag(I) cu tri, tetra și pentametilendiamina (raport 1 :1) sînt mai stabili decît complexul cu etilendiamina. Această abatere de la regulă se datorește probabil faptului că formarea ciclurilor de 6,7 și 8 atomi în complecșii menționați face posibilă legarea ionului de argint într-o structură stereochimică mai apropiată de aceea liniară (legarea se face prin cele două grupe amino).

Structurile stereochimice preferențiale ale ionilor metalici sînt date în tabelul 3.1, funcție de natura liganzilor utilizați ca agenți complexanți.

În tabel sînt date structurile stereochimice preferențiale ale ionilor metalici, dar trebuie remarcat că este posibil ca un cation să adopte și alte structuri, dacă există condițiile necesare, favorabile pentru stabilirea legăturilor metal-ligand. Așa, de exemplu, ionul Cu(I) adoptă de regulă o structură stereochimică liniară cînd coordinează cu agenți complexanți puternic bazici și polarizanți, sau dacă ei sînt slab polarizați. Dar ionul Cu(I) poate adopta și structura tetraedrică dacă se pot forma cu ligandul legăturii ionice sau dacă liganzii sînt acceptori de electroni π, de la ionul metalic. De asemenea, complecșii Co(II) au

TABEL 3.1

Structurile stereochimice ale ionilor metalici în complecşi (funcţie de natura liganzilor — după D. D. Perrin).

Ionii metalici	Nr. de coordinare	Structura stereochimică
Cu(I)[a] Ag(I)[b] Au(I)[b]	2	liniară
Cu(I)[c] Ag(I)	4	tetraedrică
Cu(II)[d] Ag(II) Au(III)	4	plan-pătrată
Hg(I) Hg(II)	2	liniară
Be(II) Zn(II) Cd(II) Hg(II) Mg(II) ?	4	tetraedrică
Mg(II) ? Ca(II) Sr(II) Ba(II) Cd(II) Zn(II)	6	octaedrică
B(III) Al(III) Ga(III) In(III)	4	tetraedrică
Al(III) Sc(III) Y(III) ionii lantanidelor	6	octaedrică
Sn(IV) Pb(IV)	4	tetraedrică
Si(IV) Ti(IV) Sn(II) Sn(IV) Pb(II) Pb(IV)	6	octaedrică
V(III) V(V)	6	octaedrică
Cr(VI)	4	tetraedrică
Cr(II)[e] Cr(III)	6	octaedrică
Mn(II) Mn(III)[e]	6	octaedrică
Co(II)[f]	4	tetraedrică
Ni(II) Pd(II) Pt(II)	4	planară
Fe(II) Fe(III) Co(II) Co(III) Ni(II) Ni(IV) Pt(IV) Ru(III) Rh(III) Os(III) Ir(III)	6	octaedrică

a) Cînd ligandul este puternic bazic, puternic sau uşor polarizat. b) Preferă nr. coordinare 2, dar pot avea şi nr. coordinare 4. c) Cînd liganzii acceptă electroni de la ionul metalic sau cînd legătura este ionică. d) Se pot forma şi structuri octaedrice distorsionate (NC=6), cu 4 legături scurte şi 2 lungi şi slabe, care pot trece în structuri plan-pătrate. e) Structură octaedrică distorsionată, dacă spinul este înalt. f) Cînd cîmpul ligandului este slab.

de regulă structură stereochimică octaedrică, dar cobaltul (II) poate forma şi complecşi tetraedrici (N.C. = 4), dacă liganzii au cîmp slab. În sfîrşit, în cazul unor ioni metalici tetravalenţi (ai Hf, Zr, Mo, W şi U), numărul de coordinare poate fi opt, iar în acest caz sînt posibile mai multe structuri stereochimice.

3.5. INFLUENŢA UNOR FACTORI ASUPRA SOLUBILITĂŢII COMPLECŞILOR

Solubilitatea complecşilor în general şi a chelaţilor în special are o importanţă deosebită, atît din punct de vedere chimic (analitic), cît şi din punct de vedere biomedical.

Unul dintre factorii importanţi care determină solubilitatea complecşilor este polaritatea moleculelor de apă şi posibilitatea

formării legăturilor de hidrogen între acestea și chelați, respectiv între acestea și anumite grupări din molecula ligandului. Se știe că substanțele organice, și mai ales hidrocarburile, respectiv lanțurile hidrocarbonate alifatice și nucleele aromatice, nu sînt solubile în apă datorită incapacității lor de a forma legături de hidrogen (sînt deci hidrofobe). În schimb, alcoolii, aldehidele, cetonele, acizii carboxilici, aminele, amidele, zaharurile etc., sînt solubile în apă (fiind hidrofile) și pot forma legături de hidrogen cu apa. Introducerea în molecula substanțelor organice a atomilor de sulf tiolici, dar mai ales tioeterici, micșorează solubilitatea, fiind puțin apte pentru formarea legăturilor de hidrogen. Dar introducerea grupelor sulfonice libere sau sodate, mărește considerabil solubilitatea substanțelor organice în apă. Spre exemplu, alizarina (1,2-dihidroxiantrachinona) este greu solubilă în apă în timp ce alizarinsulfonatul de sodiu (sarea de sodiu a ac. 1,2-dihidroxiantrachinon-3-sulfonic), denumită și alizarina-S, este solubilă în apă.

Un alt factor important de care depinde solubilitatea în apă este sarcina electrică a cationilor sau a anionilor. Astfel, cationii sau anionii fiind purtători de sarcini electrice dezvoltă un cîmp electrostatic suficient de intens pentru a determina atracția și orientarea moleculelor de apă în jurul lor. Aceasta explică solubilitatea substanțelor sulfonate, a substanțelor polare a căror ionizare este condiționată de mediile alcaline (pentru substanțele slab acide) sau acide (pentru substanțele slab bazice). Ținînd seama de structura substanțelor organice, ne putem da seama de condițiile de pH în care se pot utiliza anumiți liganzi.

Complecșii metalici lipsiți de sarcină sînt în general insolubili, dar complecșii cu liganzi puternici polari, chiar neutri fiind, au o solubilitate în apă apreciabilă (de exemplu glicocolatul de Cu(II) este solubil în apă). Solubilitatea complecșilor poate fi micșorată și de asocierea moleculelor complecșilor pentru a se forma, complecși polinucleari; în general, complecșii sînt în realitate asociații moleculare la formarea cărora participă un număr extrem de mare de molecule. Dealtfel, se cunosc numeroase exemple de complecși cu structură polimeră (inclusiv cu liganzi anorganici cum sînt carbonatul, sulfatul, fosfatul etc.).

Substituenții unui ligand influențează solubilitatea complecșilor în mai multe moduri. Adesea substituenții determină impedimente sterice, datorită cărora ligandul nu se poate atașa ionului metalic generator de complex în cadrul simetriei sale

celei mai potrivite. Spre exemplu, radicalul metil din 2-metil-8-hidroxichinolină (2-metiloxina) împiedică așezarea în jurul ionului de Al(III) cu N.C. = 6 și simetrie octaedrică, a trei molecule de ligand, deoarece ionul Al(III) are raza ionică mică (0,50 Å), astfel că se fixează numai 2 molecule de ligand, aluminiul rămînînd cu o sarcină pozitivă liberă, iar complexul este solubil în apă. În schimb, în oxinatul de aluminiu $Al(Ox)_3$, în jurul ionului de aluminiu se pot grupa trei molecule de 8-hidroxichinolină, de aceea oxinatul de aluminiu este greu solubil în apă.

Pentru mărirea solubilității în apă a complecșilor, trebuie să se introducă în molecula ligandului substituenți ionizanți cum sînt cei carboxilici sau sulfonici. Spre exemplu, oxinatul de fer(III), $Fe(Ox)_3$, este greu solubil în apă, fiind neutru din punct de vedere electric, în schimb complexul Fe(III) cu ac. 8-hidroxichinolin-5-sulfonic, $Fe(Ox-SO_3H)_3$ este solubil în apă datorită grupelor sulfonice.

Substituenții capabili de a fi protonați prin acceptare de protoni, în medii acide, se încarcă pozitiv, ceea ce determină de asemenea creșterea solubilității complecșilor în apă [33].

În cazul complecșilor coordinativ nesaturați, solubilitatea în apă este afectată nu numai de liganzii ce înconjoară ionul central, ci și de moleculele polare ale apei, care au și ele o mare capacitate coordinativă. În general, solubilitatea în apă a complecșilor cu sfere coordinative nesaturate este mai mare decît aceea a complecșilor coordinativ saturați, deoarece complecșii coordinativ nesaturați pot coordina cu moleculele de apă. Deci solubilitatea complecșilor crește odată cu hidrofilicitatea lor.

Solubilitatea depinde de asemenea și de capacitatea unor cationi de a forma complecși micști. Spre exemplu dintre complecșii dimetilglioximei cu ioni bivalenți ai metalelor tranziționale cu structură $3d^5 - 3d^{10}$, Ni-Dim_2 nu poate coordina liganzi monodentați ca OH^-, H_2O, Cl^-, nici în mediu puternic alcalin [34], de aceea acest complex este greu solubil în apă. În schimb, Pd-Dim_2, care este insolubil în apă în soluții slab acide sau neutre, este solubil în soluții apoase alcaline [35], deoarece mai poate coordina un ion hidroxil, rezultînd astfel un complex mixt, încărcat negativ. Chiar în cazul în care complecșii se formează în absența liganzilor monodentați, solubilitatea în apă crește, dacă ionul generator de complex mai poate coordina două molecule de apă de-a lungul axei z.

BIBLIOGRAFIE

1. Calvin, M., Bailes, R. H., J. Amer. Chem. Soc., 68, 949, 1946.
2. Martell, A., Calvin, M., *Die Chemie der Metallchelatverbindungen*, Verlag Chemie, G.M.B.H., Weinheim, 1958.
3. Sidgwick, N. V., J. Chem. Soc., 433, 1941.
4. Schwarzenbach, G., Helv. Chim. Acta, 35, 2344, 1952.
5. Taube, H., Chem. Rev., 50, 69, 1952.
6. Benson, D., *Introduction aux méchanismes des réactions inorganiques en solution*, Masson et Cie, Paris, 1972.
7. Busch, D. H., Advan. Chem. Soc., 1, 37, 1963.
8. Taylor, L. T., Rose, N. J., Busch, D. H., Inorg. Chem., 7, 785, 1968.
9. House, D. A., Curtis, N. F., J. Amer. Chem. Soc., 84, 3248, 1962.
10. Lang, K. M., Busch, D. H., Inorg. Chem., 9, 505, 1970.
11. Thompson, M. C., Busch, D. H., J. Amer. Chem. Soc., 86, 213, 1964.
12. Melson, G. A., Busch, D. H., J. Amer. Chem. Soc., 86, 4834, 1964.
13. Guirard, B. M., and Snell, E. E., *Comprehensive Biochemistry*, vol. 15, eds. M. Florkin and E. H. Stolz, Elsevier, New York, 1964.
14. Ewens, R.V.G., Gibson, C. S., J. Chem. Soc., 431, 1959.
15. Jones, M. M., *Ligand reactivity and catalysis*, Academic Press, New York, London, 1968.
16. Gillord, R. D., Wilkinson, R. J., J. Chem. Soc., 1964, 2835.
17. Hix, J. E., Jones, M. M., Inorg. Chem., 5, 1863, 1966.
18. Buckingham, D. A., Collman, J. P., Happer, D. A., Marzilli, L. J., J. Amer. Chem. Soc., 89, 1082, 1967.
19. Freiser, H., Morrison, G. H., Ann. Rev. Nucl. Sci., 9, 227, 1959.
20. Margerum, D. W., Zabin, B. A., Jones, D. L., Inorg. Chem., 5, 250, 1966.
21. Freiser, H., Fernando, Q., *Ionic Equilibria in analytical Chemistry*, John Wiley, New York, 1963.
22. Halpern, J., Adv. in Catalysis, 1959, 301; Ann. Phys. Chem., 16, 103, 1965.
23. Ochiai, Ei-I. Coord. Chem. Rev., 3, 49, 1968.
24. Harmon, R. E., Gupta, S. K., Brown, D. J., Chem. Rev., 73, 21, 1973.
25. Chatt, J., J. Chem. Soc., 3340, 1949.
26. Furmann, N. H., Flagg, J. F., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 12, 738, 1940.
27. Yatsimirskii, K. B., Zh. Neorg. Khim., 2, 2346, 1957.
28. Jones, J. G., Pool, J. B., Tomkinson, J. C., Williams, R. J., J. Chem. Soc., 2001, 1958.

29. Clarke, K., Cowen, R. A., Gray, G. W., Osborne, E. H., J. Chem. Soc., 245, 1963.
30. Burger, K., Egyed, J., J. Inorg. Nucl. Chem., 27, 2361, 1965.
31. Spike, C. G., Parry, R. W., J. Amer. Chem. Soc., 75, 222 și 3770, 1953.
32. Schwarzenbach, G., *Die komplexometrische Titration*, Ed. II, F. Enke, Stuttgart, 1956.
33. Kimura, K., Saito, K., Asadra, M., Bull. Chem. Soc. Japan, 29, 640, 1956.
34. Lewis, J., Wilkins, R. G., *Modern Coordination Chemistry*, Interscience Publ., New York, 1960.
35. Burger, K., Dyrssen, D., Acta Chem. Scand., 17, 1489, 1963.



CAPITOLUL 4

MASCAREA ŞI DEMASCAREA REACŢIILOR

4.1. ASPECTE GENERALE CALITATIVE

S-a arătat deja că ionii metalici prezintă, în funcţie de structura lor electronică şi de alte însuşiri, o anumită preferinţă faţă de atomii donori de carbon, azot, oxigen, sulf etc., respectiv faţă de liganzii care-i conţin. Aceasta nu înseamnă că un ion metalic care coordinează mai ales cu liganzi ce conţin ca atomi donori, de exemplu, atomi de azot, nu reacţionează şi cu alţi liganzi. Dar este de aşteptat ca stabilitatea complecşilor cu alţi liganzi să fie mai mică, decît aceea a complecşilor cu liganzi preferaţi. În orice caz, este de reţinut că în general reacţiile, chiar şi cele mai caracteristice, ale unui ion metalic, sînt interferate de alţi ioni şi de acest lucru trebuie să se ţină seama atît din punct de vedere analitic, cît şi din punct de vedere biochimic.

De aceea apare necesitatea de a împiedica interferenţele unor reacţii, inclusiv în cazul terapiei cu microelemente esenţiale, sau în cazul terapiei intoxicaţiilor cu metale grele. Rezolvarea acestor interferenţe se realizează prin reacţii de mascare. Mascarea este un proces de micşorare a concentraţiei unui ion în soluţie sub limita lui de detecţie prin reacţiile sale cele mai caracteristice. Mascarea ionilor metalici se poate face prin reacţii de precipitare, complexare, redox (respectiv prin modificarea stării de oxidare), prin modificarea pH-ului etc. Reactivii utilizaţi pentru mascare se numesc agenţi de mascare, iar dintre aceştia cei mai eficienţi sînt agenţii complexanţi chelatanţi, deoarece ei determină o scădere foarte mare a concentraţiei ionilor metalici în soluţie, fără separarea fizică prin decantare sau prin filtrare, a compuşilor existenţi în soluţie. De exemplu, se ştie că ionul Zn(II) formează cu cianurile alcaline un complex anionic, $Zn(CN)_4^{2-}$, foarte stabil ($K_i = 2{,}0 \cdot 10^{-17}$). În acest fel, concentraţia ionului Zn(II) scade în soluţie atît de mult încît nu mai sînt posibile reacţiile zincului cu ditizona, EDTA sau negrul eriocrom T. Dacă la soluţia acestui complex anionic se adaugă aldehidă formică, aceasta reacţionează cu anionul CN^- formînd formaldehidcianhidrina, iar ionul zinc

(II) este eliberat din complex și dă reacțiile sale cu ditizona, negrul eriocrom T etc. Această reacție de eliberare a unui ion dintr-un complex foarte stabil se numește demascare și ea constă în creșterea concentrației unui ion pînă la astfel de valori, încît acesta să poată participa la reacțiile sale caracteristice.

Prin urmare prin mascare se urmărește împiedicarea, fără separare, a ionilor interferenți (jenanți, străini) să participe la o anumită reacție, și în acest fel selectivitatea, specificitatea și sensibilitatea reacțiilor unui anumit ion, cresc considerabil. Se știe că în general prezența ionilor străini în soluția unui anumit ion care interesează determină o scădere a sensibilității (adesea importantă), cu atît mai mare cu cît concentrația ionilor străini este mai mare. Această influență asupra sensibilității unei reacții se poate exprima prin relația limită (R_L), care este dată de raportul concentrațiilor ionului care interesează și a ionului străin. Spre exemplu, în cazul reacției Ni(II) cu α-dimetilglioxima în prezența ionilor de Co(II) și Cu(II), relațiile limită au valorile $R_L = [Ni^{2+}]/[Co^{2+}] = 1 : 1250$, respectiv $R_L = [Ni^{2+}]/[Cu^{2+}] = 1 : 600$, ceea ce înseamnă că identificarea Ni(II) prin această reacție este posibilă numai dacă, concentrațiile ionilor de cobalt și de cupru nu sînt mai mari de 1250 și 600 de ori decît concentrația ionului de nichel.

Mascarea a fost extinsă și la reacțiile organice, caz în care agenții de mascare au în general rol de blocare protectoare a unor grupări din moleculele organice în anumite reacții. Spre exemplu acilarea aminelor primare aromatice, în vederea nitrării nucleului, este de fapt o reacție de mascare a grupei amino, care este astfel protejată față de acțiunea oxidantă a acidului azotic concentrat.

Mascarea nu se aplică numai în cazurile în care se urmărește împiedicarea totală a unor reacții. Adesea se urmărește un efect de mascare slab sau mediu, pentru a împiedica numai anumite reacții, dar în acelați timp pentru a permite (a face posibile) alte reacții. Spre exemplu, precipitarea $Zn(OH)_2$ poate fi împiedicată prin mascarea zincului cu amoniac, rezultînd complexul cationic $Zn(NH_3)_4^{2+}$ din care însă ionul Zn(II) poate reacționa cu ditizona. Sau ionul Cu(II) este mascat împotriva precipitării ca hidroxid prin complexare cu tartrat, dar complexul cuprotartric poate fi redus la oxid cupros de către zaharurile reducătoare.

Această problemă a mascării selective a anumitor reacții are o însemnătate biomedicală deosebită; în terapia cu microelemente esențiale, acestea se administrează sub forma unor complecși suficient de stabili pentru a asigura transportul lor

în organism, dar suficient de instabili pentru a ceda ionii metalici receptorilor specifici din organism.

De regulă nu dispunem de agenţi de mascare foarte selectivi pentru fiecare ion luat individual, ci de agenţi de mascare a unor grupe mici de ioni cu însuşiri analitice similare. Spre exemplu, ionul de cianură nu este un agent de mascare specific ionului Zn(II), ci pentru o serie de cationi, printre care Cu(I), Ag(I), Au(I), Zn(II), Cd(II), Hg(II), Fe(II, III), Co(II, III), Ni(II, III) etc., sau EDTA, care deşi este un agent de mascare remarcabil (însuşire cu numeroase aplicaţii biomedicale), este nespecific, avînd deci o selectivitate mică, deoarece complexează majoritatea cationilor bi, tri şi tetravalenţi.

Pe de altă parte, majoritatea agenţilor de mascare sînt acceptori de protoni, prin urmare capacitatea lor de mascare depinde considerabil de pH-ul soluţiei, descrescînd proporţional cu scăderea acestuia. Această comportare poate servi la creşterea selectivităţii, respectiv la creşterea eficienţei mascării. Mascarea se poate realiza prin mai multe procedee.

Unul dintre procedee constă în adăugarea agentului de mascare înaintea determinării, cu scopul de a masca ionul perturbator, interferent, sub forma unui complex foarte stabil, în timp ce ionul de determinat formează un complex instabil, sau mai puţin stabil, care permite ionului metalic să participe la reacţia fundamentală ce stă la baza determinării. Acest procedeu se poate practica şi într-un alt mod şi anume, determinînd în bloc suma tuturor ionilor existenţi în soluţie şi adăugînd apoi agentul de mascare care fixează numai ionul care interesează, punînd în libertate o cantitate corespunzătoare din reactivul utilizat la determinare. De exemplu, dacă ionul de Al(III) se găseşte într-o soluţie ce conţine şi alţi ioni, se pot determina cu EDTA toţi ionii metalici. Apoi se adaugă o fluorură alcalină care complexează numai aluminiul (AlF_6^{3-}), iar din cantitatea corespunzătoare de EDTA eliberată (care se poate determina cu o soluţie titrată de sulfat de zinc) se poate calcula concentraţia aluminiului.

Un alt procedeu constă în utilizarea unor agenţi de mascare capabili să modifice starea de oxidare a ionilor interferenţi. Spre exemplu, dacă ionul interferent este Cr(III), acesta se poate masca prin oxidare la Cr(VI) cu peroxid de hidrogen, în timp ce ionii Fe(III) şi Hg(II) se pot masca prin reducere, în mediu acid, cu acid ascorbic la Fe(II), respectiv la mercur metalic. De asemenea ionul Cu(II), se poate masca prin reducere la Cu(I) cu cisteină.

Un al treilea procedeu de mascare se bazează pe utilizarea diferențelor dintre vitezele reacțiilor de complexare ale ionilor de determinat și ale celor interferenți. În cazul în care trebuie determinat Fe(III) cu EDTA în prezența Cr(III), se are în vedere că viteza reacției de complexare a cromului cu EDTA este foarte mică, astfel că determinarea fierului se poate face direct în prezența cromului.

În sfîrșit, se poate aduce ionul interferent într-o formă nestînjenitoare pentru reacția care interesează, prin precipitare, fără a fi necesară separarea precipitatului. Așa, de exemplu, dacă trebuie să se determine Ca(II) în prezența Mg(II), se poate adăuga soluției hidroxid de sodiu pînă la pH ~ 12, cînd precipită $Mg(OH)_2$ (la pH 11,3 magneziul precipită practic cantitativ, iar concentrația Mg(II) în soluție este mai mică decît 10^{-6}M), astfel că se poate determina Ca(II) cu EDTA.

Desigur că există numeroase alte variante ale acestor procedee. De remarcat că este posibilă și mascarea electrochimică (utilizată în polarografie), mascarea cinetică, prin inhibarea formării unor complecși prin reacții catalitice etc.

La fel de importantă ca și mascarea este demascarea, proces invers mascării, care constă în eliberarea ionului mascat prin inhibarea efectului de mascare al agentului de mascare. Demascarea Sn(IV) din complexul anionic SnF_6^{2-} se face adăugînd acid boric, cînd se formează complexul anionic BF_4^- mai stabil, iar Sn(IV) este eliberat, putînd fi precipitat cu hidrogen sulfurat ca SnS_2.

Alegerea agenților de mascare nu este atît de simplă cum pare, deoarece este necesar să se țină seama de o serie de factori calitativi și cantitativi, ce decurg din proprietățile ionilor generatori de complecși și din cele ale liganzilor. Pe de altă parte, pentru alegerea corectă a agenților de mascare, trebuie aplicată mascării și demascării fundamentarea matematică dată de Ringbom [1] echilibrelor de complexare. Cînd se trece de la o metodă la alta, principiile se modifică puțin, de aceea fundamentarea dată de Ringbom necesită unele mici modificări. Bunăoară în reacțiile de precipitare, ionul mascat nu trebuie să coprecipite, în determinările spectrofotometrice, ionul mascat și cel ce se determină nu trebuie să absoarbă în aceeași regiune a spectrului vizibil sau ultraviolet etc. De aceste diferențe trebuie să se țină seama la tratarea matematică a echilibrelor de mascare și de demascare. Adesea pentru rezolvarea corectă a acestor aspecte și pentru alegerea condițiilor optime de reacție se utilizează computere, care dau desigur cele mai bune soluții într-un timp foarte scurt.

4.2. UNELE ASPECTE CANTITATIVE ALE MASCĂRII PRIN COMPLEXARE

4.2.1. Influenţa pH-ului asupra capacităţii de reacţie a liganzilor

De regulă la formarea unui complex ML_n, rezultat din reacţia unui ion metalic M cu un ligand L, echilibrul reacţiei, respectiv stabilitatea complexului se caracterizează simplist prin constanta de stabilitate β (notată obişnuit cu K_s), exprimată prin raportul dintre concentraţia complexului şi produsul concentraţiilor ionului metalic şi ligandului :

$$\beta = [ML_n]/[M][L]^n$$

În general, prin ligandul L se înţelege forma sa obişnuită (de exemplu pentru EDTA,Y^{4-}, iar en pentru etilendiamină $H_2N-CH_2-CH_2-NH_2$) şi se neglijează faptul că forma liganzilor este influenţată de pH-ul soluţiei, datorită acceptării de protoni de către liganzi. Deci în soluţie pot exista, în afară de ligandul L, şi alte forme ale acestuia ca HL sau H_2L, prin urmare se poate spune că în soluţie ligandul este disputat între ionul metalic şi protoni. Este firesc prin urmare ca, în soluţie, odată cu scăderea pH-ului (creşterea concentraţiei ionilor de hidrogen), să scadă concentraţia moleculelor de ligand disponibile pentru complexarea unui ion metalic, deci şi gradul de formare al complexului.

Din motivele arătate este necesară aprecierea eficienţei unui ligand ca agent complexant. Acest lucru se poate face cu ajutorul mărimii $\alpha_{L(H)}$, care exprimă raportul dintre suma concentraţiilor tuturor formelor ligandului (protonat şi neprotonat) şi concentraţia ligandului liber :

$$\alpha_{L(H)} = [L] + [HL] + [H_2L] + \ldots/[L]$$

Dacă valoarea acestui raport este mare, înseamnă că în soluţie predomină concentraţia formelor protonate ale ligandului, deci concentraţia moleculelor libere ale acestuia, disponibile pentru complexare, scade, deci scade şi eficienţa lui ca agent complexant de mascare. Pentru liganzii care pot accepta 1, 2 sau 3 protoni, dependenţa valorilor $\alpha_{L(H)}$ de pH este dată de relaţiile :

$$\alpha_{L(H)} = ([L] + [HL])/[L] = 1 + 10^{(pK_1-pH)}$$

$$\alpha_{L(H)} = ([L] + [HL] + [H_2L])/[L] = 1 + 10^{(pK_1-pH)} + 10^{(pK_1+pK_2-2pH)}$$

$$\alpha_{L(H)} = ([L] + [HL] + [H_2L] + [H_3L])/[L] = 1 + 10^{(pK_1-pH)} + $$

$$+ 10^{(pK_1+pK_2-2pH)} + 10^{(pK_1+pK_2+pK_3-3pH)} =$$

$$= 1 + [H^+]/K_1 + [H^+]^2/K_1 \cdot K_2 + [H^+]^3/K_1 \cdot K_2 \cdot K_3$$

$pK_1 > pK_2 > pK_3$, sînt valorile pK succesive ale ligandului.

În relațiile de mai sus, s-au utilizat concentrațiile ionului metalic și cele ale formelor ligandului, ceea ce este admis dacă forța ionică a soluției este apropiată de aceea care se realizează în condiții experimentale. Desigur că ar fi mai corect să se utilizeze activitățile corespunzătoare.

Pe de altă parte, trebuie să se țină seama de influențele pH-ului asupra echilibrelor de complexare, de aceea în locul constantelor de stabilitate β, trebuie să se utilizeaze constantele aparente sau condiționale, în care în locul $[L]^n$ a ligandului se ia concentrația tuturor formelor ligandului, protonate sau nu:

$$\beta_{aparent} = [ML_n]/[M][L]^n_{total} \text{ sau } \log \beta_{aparent} = \log \beta\text{-n}\log \alpha_{L(H)}$$

Valorile $\alpha_{L(H)}$ se pot utiliza practic în realizarea unor reacții de mascare și de demascare, avînd în vedere că $\alpha_{L(H)}$ variază considerabil în funcție de pH-ul soluției, ca și faptul că la valori ale pH-ului mai mici decît pK, constantele aparente de stabilitate variază mult cu pH-ul. Pentru exemplificare se discută două cazuri, care demonstrează că prin modificarea pH-ului se poate acționa favorabil asupra eficienței efectului de mascare. Spre exemplu, eficiența maximă de mascare a acidului tartric se înregistrează la pH > 5, cînd el este practic total ionizat, deci ionii tartrat pot participa integral la reacții de complexare. În același scop se pot utiliza și tartrații alcalini neutri, în mediu bazic, deoarece în aceste condiții aceștia sînt practic total ionizați. De asemenea, capacitatea maximă de mascare a triaminotrietilaminei are loc la pH = 11; la pH = 5 aceasta este total protonată, avînd capacitatea de mascare practic nulă (10^{-14} din capacitatea la pH = 11). În ambele exemple, demascarea se face prin acidulare pînă la pH < 3 în cazul acidului tartric, respectiv pînă la pH ~ 5, în cazul triaminotrietilaminei.

Cunoscînd valorile pK_a ale principalilor agenți de mascare, date în tabelul 4.1, se pot calcula valorile $\alpha_{L(H)}$ corespunzătoare și apoi constantele aparente de stabilitate.

$$\alpha_{L'(H)} = ([L'] + [HL'] + [H_2L'] + [H_3L'])/[L'] = 1 + 10^{(pK_1 - pH)} + 10^{(pK_1 + pK_2 - 2pH)} + 10^{(pK_1 + pK_2 + pK_3 - 3pH)} = 1 + [H^+]/K_1 + [H^+]^2/K_1 \cdot K_2 + [H^+]^3/K_1 \cdot K_2 \cdot K_3$$

$pK_1 > pK_2 > pK_3$, sînt valorile pK succesive ale ligandului.

În relațiile de mai sus, s-au utilizat concentrațiile ionului metalic și cele ale formelor ligandului, ceea ce este admis dacă forța ionică a soluției este apropiată de aceea care se realizează în condiții experimentale. Desigur că ar fi mai corect să se utilizeze activitățile corespunzătoare.

Pe de altă parte, trebuie să se țină seama de influențele pH-ului asupra echilibrelor de complexare, de aceea în locul constantelor de stabilitate β, trebuie să se utilizeaze constantele aparente sau condiționale, în care în locul $[L']^n$ a ligandului se ia concentrația tuturor formelor ligandului, protonate sau nu:

$$\beta_{aparent} = [ML'_n]/[M][L']^n_{total} \quad \text{sau} \quad \log \beta_{aparent} = \log \beta - n\log \alpha_{L'(H)}$$

Valorile $\alpha_{L'(H)}$ se pot utiliza practic în realizarea unor reacții de mascare și de demascare, avînd în vedere că $\alpha_{L'(H)}$ variază considerabil în funcție de pH-ul soluției, ca și faptul că la valori ale pH-ului mai mici decît pK, constantele aparente de stabilitate variază mult cu pH-ul. Pentru exemplificare se discută două cazuri, care demonstrează că prin modificarea pH-ului se poate acționa favorabil asupra eficienței efectului de mascare. Spre exemplu, eficiența maximă de mascare a acidului tartric se înregistrează la $pH > 5$, cînd el este practic total ionizat, deci ionii tartrat pot participa integral la reacții de complexare. În același scop se pot utiliza și tartrații alcalini neutri, în mediu bazic, deoarece în aceste condiții aceștia sînt practic total ionizați. De asemenea, capacitatea maximă de mascare a triaminotrietilaminei are loc la $pH = 11$; la $pH = 5$ aceasta este total protonată, avînd capacitatea de mascare practic nulă (10^{-14} din capacitatea la $pH = 11$). În ambele exemple, demascarea se face prin acidulare pînă la $pH < 3$ în cazul acidului tartric, respectiv pînă la $pH \sim 5$, în cazul triaminotrietilaminei.

Cunoscînd valorile pK_a ale principalilor agenți de mascare, date în tabelul 4.1, se pot calcula valorile $\alpha_{L'(H)}$ corespunzătoare și apoi constantele aparente de stabilitate.

TABEL 4.1

Valorile pK ale agenţilor de mascare (după Perrin)

Acetilacetona	4,7
Acid acetic	8,9
Acid aminoacetic	pK_1 9,7, pK_2 2,5
Acid ascorbic	pK_1 11,3, pK_2 4,1
Acid boric	9,1
Acid cianhidric (sare de K)	9,2
Acid citric	pK_1, 6,1 pK_2 4,4, pK_3 3,0
Acid ciclohexandiaminotetraacetic	pK_1 11,8, pK_2 6,2, pK_3 3,6, pK_4 2,5
Acid dietilentriaminopentaacetic	pK_1 10,6, pK_2 8,7; pK_3 4,4; pK_4 2,9; pK_5 1,9
Acid dimercaptosuccinic	pK_1 10,8; pK_2 8,9; pK_3 3,5; pK_4 2,7
Acid etilendiaminotetraacetic	pK_1 10,3; pK_2 6,2; pK_3 2,8; pK_4 2,1
Acid etilenglicol bis(2-aminoetileter) tetraacetic	pK_1 9,5; pK_2 8,9; pK_3 2,7; pK_4 2,1
Acid fenilarsonic	3,5
Acid fluorhidric	3,1
Acid fosforic	pK_1 11,9; pK_2 6,9; pK_3 2,0
Acid gluconic	3,9
Acid glutamic	pK_1 9,2; pK_2 4,0; pK_3 2,2
Acid 2-hidroxietiletilendiamino-triacetic	pK_1 9,8; pK_2 5,4; pK_3 2,7
Acid 8-hidroxichinolin-5-sulfonic	pK_1 8,4; pK_2 3,8
Acid iminodiacetic	pK_1 9,5; pK_2 2,7
Acid lactic	3,8
Acid malic	pK_1 4,7; pK_2 3,2
Acid malonic	pK_1 5,4; pK_2 2,7
Acid β-mercaptopropionic	4,9
Acid nitrilotriacetic	pK_1 9,8; pK_2 2,6; pK_3 2,0
Acid oxalic	pK_1 4,0; pK_2 1,1
Acid pirofosforic	pK_1 8,5; pK_2 6,1; pK_3 2,5; pK_4 1,0
Acid salicilic	pK_1 13,1; pK_2 2,9
Acid sulfosalicilic	pK_1 11,6; pK_2 2,6
Acid sulfhidric	pK_1 14; pK_2 6,9
Acid tartric	pK_1 4,1; pK_2 2,9
Acid tioglicolic	pK_1 10,2; pK_2 3,4
Acid tiocianhidric (sare de K)	−2
Acid tiosulfuric (sare de Na)	1,4
Amoniac	9,4
α,α'-Bipiridil	4,4
1,2-Diaminopropan	pK_1 10,0; pK_2 6,9
1,3-Diaminopropan	pK_1 10,7; pK_2 9,0
Dietilentriamina	pK_1 10,0; pK_2 9,2; pK_3 4,4
Dimercaptopropanol	pK_1 10,6; pK_2 8,6
Etanolamină	9,7

Etilendiamină	pK_1 10,1 ; pK_2 7,3
1,10-Fenantrolina	5,0
Hidroxilamina	6,2
Pentametilenhexamina	pK_1 10,3 ; pK_2 9,8 ; pK_3 9,2 ; pK_4 8,6
Peroxidul de hidrogen	11,7
Tetraetilenpentamina	pK_1 9,5 ; pK_2 9,1 ; pK_3 8,1 ; pK_4 4,7 ; pK_5 2,7
Tenoiltriflouracetona	6,1
Tioureea	2,0
Tironul	pK_1 12,7 ; pK_2 7,7
1,2,3-Triaminopropan	pK_1 9,7 ; pK_2 8,0 ; pK_3 3,8
Triaminotrietilamina	pK_1 10,4 ; pK_2 9,7 ; pK_3 8,6
Trietanolamina	7,8
Trietilentetramina	pK_1 10,0 ; pK_2 9,3 ; pK_3 6,8 ; pK_4 3,4

Pentru acizii monobazici și pentru bazele monoacide, valoarea $\alpha_{L(H)}$, la pH mai mic decît pK_a, se calculează astfel:

$$\log \alpha_{L(H)} = pK_a - pH$$

(la valori ale pH-ului mai mari decît pK_a, $\log \alpha_{L(H)} \approx 0$).

Pentru acizii bibazici și bazele biacide, ecuația de calcul a $\alpha_{L(H)}$ este următoarea:

$$\log \alpha_{L(H)} = pK_{a_1} + pK_{a_2} - 2pH$$

În cazul acizilor polibazici și a bazelor poliacide (tri- și tetravalente) se pot utiliza expresii similare pentru calcularea $\alpha_{L(H)}$.

4.2.2. Constante condiționale de stabilitate

Introducerea constantelor condiționale în calculele analitice a fost inițiată și propusă de Schwarzenbach [2], Yatsimirskii [3], Wehler [4] și Ringbom [1, 5]. Astfel, în reacțiile de complexare, Schwarzenbach a introdus mărimile (factorii sau coeficienții) α_M și α_L ,întru totul analoage mărimii $\alpha_{L(H)}$. Mărimea α_M exprimă raportul dintre concentrația totală [M'] și concentrația reală [M] a ionului metalic liber în soluție. În acest caz [M'] reprezintă suma concentrațiilor ionului metalic liber, hidratat sau hidrolizat, sau a altor forme ale ionului metalic

cum sînt complecşii lui cu halogenură sau cu amoniacul. Se poate defini şi o altă mărime, de ex. $\alpha_{M(OH)}$, care exprimă gradul de hidroliză al unui ion metalic. Pe de altă parte $[L']$ reprezintă suma concentraţiilor ligandului liber, a formelor sale protonate, ca şi concentraţia complecşilor săi cu alţi ioni metalici existenţi în soluţie. Mărimile α_M şi α_L pot fi considerate şi mărimi ce exprimă gradul reacţiilor parazite, în soluţia în care se formează complexul ML_n, deoarece în cazul în care ionul metalic reacţionează numai cu ligandul L, $\alpha_M=1$, dar în cazul în care el participă şi la reacţii parazite, $\alpha_M > 1$.

Aceste consideraţii privitoare la rezolvarea găsirii condiţiilor optime pentru obţinerea unui complex (sau chiar a altor tipuri de combinaţii) şi pentru îmbunătăţirea condiţiilor de mascare a unei reacţii, au fost dezvoltate de către unii cercetători, printre care Hlanicki [6], Kelly şi Sutton [7].

După Ringbom, constanta condiţională de stabilitate, ce caracterizează o reacţie de echilibru la obţinerea complecşilor, se defineşte prin mărimea :

$$K_{M'L'_n} = \frac{[ML_n]}{[M'][L']^n} = \frac{\beta_{ML_n}}{\alpha_M \cdot \alpha_L^n}$$

Dacă reacţia de complexare a cationului M cu ligandul L este interferată de alţi liganzi care se pot nota cu A, B, ..., atunci :

$$\alpha_M = [M']/[M] = ([M] + [MOH] + \ldots + [MA] + [MA_2] + + \ldots + [MB] + [MB_2] + \ldots)/[M] = \alpha_{MOH} + \beta_{MA}[A] + + \beta_{MA_2}[A]^2 + \ldots + \beta_{MB}[B] + \beta_{MB_2}[B]^2 + \ldots$$

iar dacă reacţia de complexare este interferată de alţi ioni metalici care se pot nota cu M_1 şi M_2, atunci :

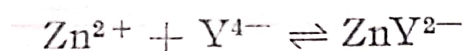
$$\alpha_L = \alpha_{L(H)} + \beta_{M_1L}[M_1] + \beta_{M_2L}[M_2]$$

La calcularea termenilor ce se cuprind în α_M, adică α_{MOH}, β_{MA} etc., se întîmpină unele dificultăţi, adesea destul de mari, deoarece termenii menţionaţi se pot calcula numai în cazurile în care se cunosc constantele necesare şi dacă concentraţiile liganzilor interferenţi nu scad semnificativ prin formarea complexului ML_n [8]. Adesea ar trebui să se cunoască constantele de hidroliză, respectiv constantele de stabilitate (de formare) ale complecşilor hidrolizaţi, dar de regulă acestea nu se cunosc (mai ales constantele de hidroliză). Pe de altă parte, constantele de echilibru sînt determinate la forţă ionică prea mare şi ele

nu sînt, de regulă, aplicabile la condițiile experimentale obișnuite prin nici o corelație.

În orice caz, din punct de vedere al mascării și, în general, în cazul reacțiilor de complexare, trebuie să se țină seama de modul de existență al ionilor metalici în soluție, ca și de alți liganzi ce pot exista în soluție și care pot participa la formarea unor complecși micști (de tip MAB, MAB_2 etc, dacă liganzii străini sînt A și B), care de multe ori sînt mai stabili decît complecșii formați cu un singur ligand (de ex. MA sau MB). Dar, de regulă, este greu să se țină seama de toți acești factori legați mai ales de complecșii micști. În orice caz, hidroliza ionului metalic nu se poate neglija la calcularea constantelor condiționale. Dacă hidroliza este neglijabilă, ca și formarea unor complecși paraziți, log $K_{M'L'_n}$ depinde de pH, în același mod ca $\alpha_{L(H)}$.

Pentru exemplificare se consideră reacția de complexare a Zn(II) cu EDTA, la determinarea cantitativă a zincului, care are loc în mediu bazic, la pH 9—10, realizat cu tampon amoniacal. Dacă în soluție nu ar avea loc decît reacția de complexare a Zn(II) liber cu EDTA liber (Y^{4-}), aceasta ar decurge astfel:



$$Zn^{2+} + Y^{4-} \rightleftharpoons ZnY^{2-}$$

iar constanta de stabilitate s-ar putea scrie astfel:

$$K = \frac{[ZnY^{2-}]}{[Zn^{2+}][Y^{4-}]}$$

Dar, în soluție ionul Zn(II) se găsește în mediu bazic (tampon amoniacal) atît liber, cît mai ales sub forma unor amino sau hidroxocomplecși ca $Zn(NH_3)^{2+}$, $Zn(NH_3)_2^{2+}$, $Zn(NH_3)_3^{2+}$, $Zn(NH_3)_4^{2+}$, $Zn(OH)^+$, $Zn(OH)_2$, $Zn(OH)_3^-$, $Zn(OH)_4^{2-}$, iar anionul EDTA se găsește de asemenea sub forma unor compuși protonați ca HY^{3-}, H_2Y^{2-}, H_3Y^- și H_4Y. De existența în soluție a acestor forme ale ionului metalic și ligandului trebuie să se țină seama la calcularea constantei de echilibru. De aceea, în locul constantei de echilibru de mai sus se folosește constanta condițională de echilibru:

$$K' = \frac{[ZnY^{2-}]}{[Zn'][Y']}$$

în care:

$$[Zn'] = [Zn^{2+}] + [Zn(NH_3)^{2+}] + [Zn(NH_3)_2^{2+}] + \ldots +$$
$$+ [Zn(OH)^+] + [Zn(OH)_2] + \ldots$$
$$[Y'] = [Y^{4-}] + [HY^{3-}] + [H_2Y^{2-}] + [H_3Y^-] + [H_4Y]$$

În general nu interesează formele sub care se află în soluție ionul metalic și ligandul, ci concentrația complexului ZnY^{2-} și concentrațiile ionului metalic și a ligandului nereacționați. Valoarea constantei de echilibru condițională depinde de pH-ul soluției, concentrațiile liganzilor și ale ionilor metalici neimplicați în reacția principală, dar implicați în reacțiile secundare parazite. În continuare, se calculează valorile α_{Zn} și α_Y și K', valorile α fiind funcții (termeni) ale constantelor de echilibru ale reacțiilor secundare.

$$\alpha_{Zn} = \frac{[Zn']}{[Zn^{2+}]} \qquad \alpha_Y = \frac{[Y']}{[Y^{4-}]} \qquad K' = \frac{K}{\alpha_{Zn} \cdot \alpha_Y}$$

$$\alpha_{Zn} = \frac{[Zn^{2+}] + [Zn(NH_3)^{2+}] + [Zn(NH_3)_2^{2+}] + [Zn(NH_3)_3^{2+}] + [Zn(NH_3)_4^{2+}]}{[Zn^{2+}]}$$

$$\alpha_Y = \frac{[Y^{4-}] + [HY^{3-}] + [H_2Y^{2-}] + [H_3Y^-] + [H_4Y]}{[Y^{4-}]}$$

Dacă în continuare, concentrațiile complecșilor secundari ai ionului metalic și ai ligandului se exprimă prin constantele de stabilitate (de echilibru) ale complecșilor formați în trepte și globale, și prin reducere se obțin, pentru valorile α, expresiile:

$$\alpha_{Zn} = 1 + K_1[NH_3] + \beta_2[NH_3]^2 + \beta_3[NH_3]^3 + \beta_4[NH_3]^4$$

în care:

$$K_1 = \frac{[Zn(NH_3)^{2+}]}{[Zn^{2+}][NH_3]}; \quad \beta_2 = \frac{[Zn(NH_3)_2^{2+}]}{[Zn^{2+}][NH_3]^2}; \quad \beta_3 = \frac{[Zn(NH_3)_3^{2+}]}{[Zn^{2+}][NH_3]^3};$$

$$\beta_4 = \frac{[Zn(NH_3)_4^{2+}]}{[Zn^{2+}][NH_3]^4}$$

și

$$\alpha_Y = 1 + K_1[H^+] + \beta_2[H^+]^2 + \beta_3[H^+]^3 + \beta_4[H^+]^4 \text{ în care:}$$

$$K_1 = \frac{[HY^{3-}]}{[Y^{4-}][H^+]}; \quad \beta_2 = \frac{[H_2Y^{2-}]}{[Y^{4-}][H^+]^2}; \quad \beta_3 = \frac{[H_3Y^-]}{[Y^{4-}][H^+]^3};$$

$$\beta_4 = \frac{[H_4Y]}{[Y^{4-}][H^+]^4}$$

Valorile α_M și α_L se pot calcula prin urmare simplu, iar în unele cazuri se pot lua din tabele, fiind calculate pentru reacțiile unor cationi (Mn(II), Fe(II, III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II)

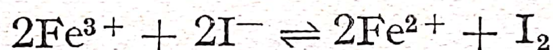
etc.) cu anumiți liganzi (EDTA, citrat, NTA, amoniac, OH^-, tartrat etc), în funcție de condițiile în care au loc reacțiile de complexare.

De remarcat că, constantele condiționale de echilibru se pot aplica și la reacțiile de precipitare, la extracția cu solvenți, dacă se utilizează valorile α_M și α_{L}, corespunzătoare (cu care se înmulțesc concentrațiile ionilor metalici liberi sau concentrația ligandului).

4.3. MASCAREA REACTIVITĂȚII

4.3.1. Mascarea reactivității chimice

Reacțiile de mascare prin complexare pot avea efecte favorabile sau nefavorabile asupra unor reacții ale unor ioni metalici, în sensul că procesul de mascare poate să micșoreze capacitatea de reacție atît de mult încît reacția să fie împiedicată. Spre exemplu, se știe că ionul Fe(III) oxidează iodura la iod, în mediu acid, conform reacției:



$$2Fe^{3+} + 2I^- \rightleftharpoons 2Fe^{2+} + I_2$$

al cărei echilibru este practic total deplasat spre dreapta (această reacție stă la baza determinării iodometrice a fierului trivalent). Dacă se introduce în acest sistem un agent complexant al Fe(III), cum sînt EDTA, F^-, tartrat etc., echilibrul reacției de mai sus se deplasează spre stînga ca urmare a formării complecșilor corespunzători, foarte stabili. Prin urmare capacitatea de oxidare a Fe(III) este mascată și astfel oxidarea iodurii la iod nu mai are loc. O situație similară se întîlnește și în cazul ionului Cu(II), care poate oxida iodura la iod, în mediu acid, reacție ce poate fi împiedicată prin complexarea Cu(II) cu EDTA. În schimb, unii oxizi superiori ai plumbului și manganului pot oxida iodura la iod în prezența EDTA.

Prin complexare se poate acționa și asupra reactivității ligandului, dacă acesta se coordinează cu un ion metalic, mai ales dacă se formează chelați. Dacă în procesul de coordinare a ligandului cu un ion metalic sînt implicate perechi de electroni ai ligandului (de la atomul donor), unele reacții caracteristice ale ligandului sînt întîrziate sau împiedicate. Astfel, aminele, fosfinele și arsinele coordinate nu se pot protona, deoarece nu mai dispun de perechi de electroni disponibile pentru a putea

accepta protoni. În cazul unor liganzi cu oxigen sau sulf ca atomi donori, care au mai multe perechi de electroni neparticipanți, dintre care numai una participă la coordinare, mascarea reactivității lor are loc în mai mică măsură. Coordinarea liganzilor poate determina și alte efecte ca modificarea conformației moleculei, a densității electronice în centrele reactive ale ligandului, a potențialului redox al ligandului etc., efecte care modifică unele dintre proprietățile liganzilor (ca protonarea, oxidarea etc). Așa ,de exemplu, EDTA se poate oxida cu permanganat, dar prin complexarea sa cu ioni Bi(III), oxidarea nu are loc [9]. În mod similar, acidul hidroxietiletilendiaminotriacetic se poate masca împotriva oxidării cu vanadat, prin coordinare cu ioni Co(II) [10], iar zaharurile reducătoare se pot masca cu borat împotriva oxidării cu hexacianoferat (III) în mediu alcalin [9].

În sfîrșit, mascarea unor liganzi se poate face și prin alte reacții decît cele de complexare. Așa, de exemplu, aminele primare aromatice se pot masca prin acilare față de acțiunea oxidantă a acidului azotic, la reacția de nitrare.

Exemplele de mascare a reactivității liganzilor sînt numeroase [11—15], dar depășesc cadrul temei tratate.

4.3.2. Mascarea cinetică a reacțiilor

Această metodă se bazează pe titrarea catalitică (sau catalimetrică) a unor microcantități de molecule sau ioni, capabili să mascheze un catalizator al unei reacții în anumite condiții experimentale. Prin urmare în această categorie de metode de mascare sînt cuprinse metodele de titrare a unui inhibitor cu o soluție a unui catalizator sau invers. Ca metodă de indicare a echivalenței se folosește chiar activitatea catalitică asupra substratului. În cadrul reacțiilor bazate pe acest principiu, este necesar să se formeze complecși foarte stabili sau precipitate foarte greu solubile, altfel reacțiile nu decurg cantitativ.

În acest fel, se pot doza Ag(I) [16] și Pd(II) [17] cu iodură de potasiu (10^{-6}M), indicarea punctului de echivalență făcîndu-se catalitic. În acest scop, se utilizează oxidarea acidului arsenios cu Ce(IV), reacție ce este catalizată de un foarte mic exces de iodură. Dealtfel, acțiunea catalitică a iodurii în procesul de oxidare a acidului arsenios cu Ce(IV) este detectabilă la o concentrație în iodură de 10^{-8}M. Produsul de solubilitate al AgI fiind $P_s = 8 \cdot 10^{-17}$, la echilibru, concentrația iodurii de argint este apropiată de 10^{-8} M, astfel că este posibilă determinarea

argintului în concentrații micromolare, cu o precizie foarte bună (±1%). Un alt exemplu îl oferă o metodă de determinare a urmelor de vanadiu din apă [18], știut fiind că V(V) catalizează reacția de oxidare a acidului galic în mediu acid, cu persulfat de amoniu.

4.4. EFICIENȚA MASCĂRII ȘI SELECTIVITATEA REACȚIILOR

Utilizarea eficientă a agenților de mascare impune scăderea concentrației ionilor metalici (sau a altor specii chimice) la un nivel foarte mic, astfel încît aceștia să nu mai dea reacțiile lor cele mai caracteristice. Pentru aceasta este necesar ca valoarea constantei condiționale să fie mai mică decît 100 (în acest caz o reacție poate fi considerată complet mascată), iar pe de altă parte mascarea nu poate fi considerată cantitativă, dacă logaritmul constantei condiționale nu este mai mare decît 7. Adesea pentru exprimarea concentrației unui ion metalic, se utilizează exponentul acesteia $pM = -\log [M]$. În reacțiile de precipitare, de exemplu, pentru o valoare $pM = 6$, ceea ce corespunde unei concentrații de 10^{-6}M a ionului metalic, acestea se pot considera cantitative.

4.4.1. Factori de mascare și de selectivitate

Pentru aprecierea gradului de mascare a unei reacții și a selectivității unor reacții de complexare în prezența unui agent de mascare complexant, se pot utiliza factorii de mascare și de selectivitate [19]. Factorul de mascare M.F. și de selectivitate S.F. sînt dați de relațiile:

$$M.F. = \frac{(-\log[M_A])^2}{-\log[M]} \quad \text{iar} \quad S.F. = \frac{(-\log[M])^2}{-\log[M]}$$

În aceste relații, [M] reprezintă concentrația ionilor metalici liberi (care provin din disocierea complexului format în reacția principală), iar $[M_A]$ reprezintă concentrația ionilor metalici ce provin din disocierea complexului format în reacția de mascare. Efectul de mascare este atît mai mare, mai eficient, cu cît valoarea factorului de mascare este mai mare și valoarea factoru-

lui de selectivitate este mai mică, și invers. Factorii de mascare și de selectivitate depind de concentrație și de relația care există între aceasta și reactivi. În tabelul 4.2 sînt date valorile factorilor de mascare și de selectivitate ale unor complecși ai dimetilglioximei în prezența EDTA și a N,N-bis-(2-hidroxietil)glicinei, după Cheng [19].

TABEL 4.2

Factorii de selectivitate și de mascare ai complecșilor dimetilglioximei, în prezența EDTA și BHEG (după Cheng).

Ionul metalic	Agentul de mascare	F.S.	F.M.
Co^{2+}	$EDTA^{4-}$	4,9	10,4
Co^{2+}	$BHEG^{-}$	9,0	3,1
Cu^{2+}	$EDTA^{4-}$	6,5	11,3
Cu^{2+}	$BHEG^{-}$	8,6	5,7
Ni^{2+}	$EDTA^{4-}$	5,6	12,0
Ni^{2+}	$BHEG^{-}$	9,6	4,1
Zn^{2+}	$EDTA^{4-}$	2,6	14,3
Zn^{2+}	$BHEG^{-}$	5,0	4,5

Din acest tabel se poate observa că în cazul ionului de Cu(II), acesta se poate masca cu EDTA față de dimetilglioximă (M.F. = 11,3, iar S.F. = 6,5), dar nu se poate masca cu N,N-(2-hidroxietil)glicină (M.F. = 5,7 iar S.F. = 8,6), deoarece factorul de mascare este mult mai mic decît cel de selectivitate. Utilizînd valorile factorilor de mascare și de selectivitate se poate prevedea dacă un agent de mascare este eficient sau nu în mascarea unei reacții. Calcularea factorilor de mascare și de selectivitate impune cunoașterea concentrației ionului metalic [M], care se determină din constantele condiționale de echilibru sau din cele termodinamice, corectate cu factorii α_M.

4.4.2. Raport de mascare și indice de mascare

Pentru aprecierea gradului de mascare, Perrin propune utilizarea raportului de mascare M.R. și a indicelui de mascare M.I. Raportul de mascare este raportul dintre concentrația totală a ionului metalic M_T (inclusiv complecșii ionului metalic cu alți liganzi existenți în soluție ML, ML_2, ML_3 etc) și concentrația ionului metalic liber, raport exprimat prin relația:

$$M.R. = \frac{[M]_T}{[M]} = \alpha_{M(OH)} + \beta_1 [L]_T/\alpha_{L(H)} + \beta_2 [L]_T^2/(\alpha_{L(H)})^2 + \dots$$

Indicele de mascare este chiar logaritmul raportului de mascare, fiind dat de relația simplificată:

$$M.I. = \log M.R. = \log \beta_n + n \log [L]_T - n \log \alpha_{L(H)}$$

dacă în soluție predomină complexul rezultat în reacția principală ML_n.

La valori mari ale pH-ului predomină complecși de hidroliză, deci este predominat factorul $\alpha_{M(OH)}$, caz în care sînt importante mai ales (sau numai) efectele hidrolizei. La valori intermediare ale pH-ului, dar mai mari decît pK_1 ($pH > pK_1$), indicele de mascare este egal cu:

$$M.I. = \log \beta_n + n \log [L]_T$$

În schimb, la valori mici ale pH-ului, deci în mediu acid, indicele de mascare se calculează prin prima relație, deoarece el scade constant cu scăderea pH-ului, de $n \log \alpha_{L(H)}$ ori. Indicii de mascare se pot calcula relativ ușor (în domeniile de mascare optimă), cunoscînd constantele de stabilitate. La valori mai mici ale pH-ului sînt necesare corecții, pentru care este suficient de regulă să se cunoască $\log \alpha_{L(H)}$. Dacă agenții de mascare sînt liganzi polidentați, pot să rezulte mai mulți complecși metalici, mai mult sau mai puțin protonați, de aceea problema variației indicilor de mascare în funcție de pH este mai complicată.

4.4.3. Indice de selectivitate

Pentru aprecierea măsurii în care o reacție de determinare cantitativă este selectivă și specifică, se utilizează indicele de selectivitate propus de Belcher [20, 21], formulat astfel:

$$\begin{matrix} x & & X \\ & M & \\ y & & Y \end{matrix}$$

unde M reprezintă metoda de analiză utilizată, x este gradul de selectivitate reprezentat prin litere grecești (α, β, γ, δ, ε), în funcție de numărul ionilor care dau reacția, y este pH-ul la care are loc reacția, X reprezintă ionul pentru care reacția este specifică, iar Y reprezintă agentul de mascare utilizat.

Spre exemplu, în cazul dozării spectrofotometrice [22] a Ni(II) cu dimetilglioxima, extrăgînd complexul $NiDim_2$ în cloroform [23], indicele de selectivitate se reprezintă astfel:

$$\alpha \quad Ni$$
$$S_x$$
$$7-10 \quad NH_3$$

ceea ce înseamnă că reacția este selectivă (α) pentru Ni(II), la pH7—10, în prezența amoniacului ca agent de mascare.

Notația lui x se face cu α, dacă reacția este dată de un singur ion (în condițiile de lucru), cu β dacă ea este dată de 2—3 ioni, cu γ dacă ea este dată de 4—6 ioni, cu δ pentru 7—10 ioni și cu ε pentru un număr de ioni mai mare decît 10. M se notează cu G pentru metode gravimetrice, cu T pentru cele volumetrice (titrimetrice), cu S pentru cele spectrofotometrice, cu S_x pentru metodele spectrofotometrice bazate pe extracție, cu F pentru cele fluorometrice, cu N pentru cele nefelometrice etc. Dacă indicele de selectivitate este utilizat pentru detectarea calitativă sau pentru a arăta că reactivul este indicator sau agent de mascare, M se notează cu Q, I, respectiv rămîne M.

Selectivitatea reacțiilor de complexare, depinde în mare măsură de ionul generator de complex, respectiv de structura sa electronică și de modificările acesteia prin coordinare, modificări determinate de cîmpul agenților complexanți și de recoordinare. Toate acestea se repercutează asupra stabilității complecșilor, producînd modificări în spectrele în UV și în vizibil ale complecșilor, afectînd în același timp reactivitatea ligandului (adică substituția sau posibilitatea coordinării mixte a liganzilor).

Pe de altă parte, trebuie menționat că printre cele mai specifice și mai selective reacții se numără acelea cu formare de complecși micști. La formarea acestor complecși participă de regulă liganzi bidentați chelatanți și liganzi monodentați, dacă ionul generator este nesaturat coordinativ în complexul său cu ligandul bidentat. În complecșii micști, liganzii bidentați sînt legați mai puternic de ionul generator decît liganzii monodentați. Pentru a se forma un complex mixt trebuie satisfăcute două condiții importante. În primul rînd, ligandul bidentat trebuie să nu poată satura coordinativ ionul generator de complex, adică să nu ocupe toate pozițiile coordinative ale acestuia. În al doilea rînd, ligandul monodentat trebuie să fie suficient de mic pentru a putea ocupa pozițiile coordinative libere din

sfera de coordinare a ionului generator şi să aibă o concentraţie suficient de mare. Desigur că la aceste condiţii mai importante se mai adaugă şi altele. Astfel, raza ionului generator de complex trebuie să fie suficient de mare pentru ca acesta să se poată apropia de ligand. Pe de altă parte, ionul generator trebuie să aibă în învelişul său electronic un orbital vacant, pentru a putea accepta o pereche de electroni de la ligandul monodentat. În sfîrşit, formarea complecşilor micşti este condiţionată de polarizabilitatea reciprocă a ionilor generatori şi liganzilor, de însuşirile π acceptoare ale ligandului, de relaţiile de simetrie dintre ionii generatori şi liganzi etc.

Pentru exemplificare se consideră ionul Co(II) cu N.C. 4 în complecşi cu simetrie tetraedrică şi 6, în complecşi cu simetrie octaedrică. Dacă ionul Co(II) coordinează cu dimetilglioxima, rezultă complexul Co-Dim_2, în care fiecare ligand ocupă două poziţii coordinative prin cei doi atomi de azot, liganzii fiind menţinuţi într-o structură plan pătrată (nu tetraedrică), prin legăturile de hidrogen ce se stabilesc între liganzi (Fig. 4.1). Din acest motiv nu este posibilă coordinarea unei

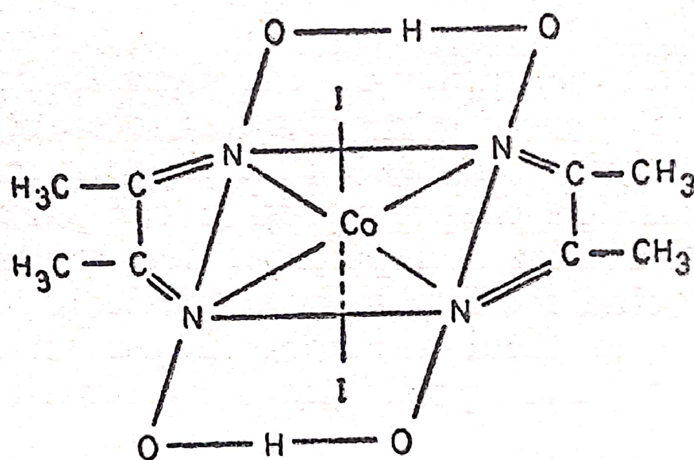


Fig. 4.I. [$Co(Dim)_2$].

a treia molecule de ligand pentru formarea configuraţiei octaedrice. De aceea de-a lungul axei z, se pot coordina doi liganzi monodentaţi, de exemplu, ioni I^-, obţinîndu-se astfel complexul bis-(dimetilglioximato)-diiodo-cobalt (II) [24], care are o simetrie octaedrică distorsionată [25]. Aceasta este o reacţie selectivă pentru ionul Co(II), ce stă la baza determinării spectrofotometrice (în mediu acid) a cobaltului [26]. Ceilalţi cationi bivalenţi ai metalelor tranziţionale cu structură $3d^5 - 3d^{10}$ nu pot forma un complex mixt de forma celui discutat pentru cobalt. Spre exemplu, în cazul Ni(II), complexul Ni(II)-Dim_2

are o simetrie plan pătratică stabilă, de aceea nichelul nu mai poate coordina cu liganzi monodentați pentru a forma complecși micști. În cazul celorlalți ioni din seria menționată se pot forma complecși micști cu ionul hidroxil OH^-, ligand monodentat puternic bazic (spre deosebire de ionii iodură).

BIBLIOGRAFIE

1. Ringbom, A., *Complexation in analytical Chemistry*, Interscience, New York, 1963.
2. Schwarzenbach, G., *Complexometric titrations*, Interscience, New York, 1957.
3. Yatsimirskii, K. B., Zh. Anal. Khim., 10, 94, 1955.
4. Wehler, P., Z. Anal. Chem., 153, 249, 1956.
5. Ringbom, A., J. Chem., Ed., 35, 282, 1958.
6. Hlanicki, A., Talanta, 9, 549, 1962.
7. Kelly, J. J., Sutton, D. C., Talanta, 13, 1573, 1966.
8. Perrin, D. D., Pure Appl. Chem., 20, 133, 1969.
9. Becke, M. T., Khing, O., Acta Chem. Scand., 15, 453, 1961.
10. Jones, M. M., Johnston, D. O., Barnett, C. J., J. Inorg. Nucl. Chem., 28, 1927, 1966.
11. Green, R. W., Ang. K. P., J. Am. Chem. Soc., 77, 5483, 1955.
12. Albert, B., Biochem. J., 50, 690, 1952.
13. Hay, R. W., Morris, P. J., Perrin, D. D., Austral. J. Chem., 21, 1073, 1968.
14. McOrnie, J. F., Adv. org. Chem., 3, 191, 1963.
15. Kurtz, A. C., J. Biol. Chem., 180, 1265, 1949.
16. Yatsmirskii, K. B., Fedorova, T. I., Dokl. Akad. Nauk, SSSR, 143, 143, 1962. Zh. Analit. Khim., 18, 1300, 1963.
17. Fedorova, T. I., Yatsimirskii, K. B., Zh. Analit. Khim., 22, 283, 1967.
18. Fishman, M. J., Skongstad, M. W., Anal. Chem., 36, 1643, 1964.
19. Cheng, K. L., Anal. Chem., 33, 783, 1961.
20. Belcher, R., Talanta, 12, 129, 1965.
21. Belcher, R., Betteridge, D., Talanta, 13, 535, 1966.
22. Sandell, E. B., Perlich, N., Ind. Eng. Chem. Anal., 11, 28, 1939.
23. Halle, A. J., Young, R. S., Analyst, 71, 479, 1946.
24. Burger, K., *Chelats in analytical Chemistry*, vol. II, M. Decker, New York, 1969.
25. Burger, K., Pinter, B., J. Inorg. Nucl. Chem., 29, 1717, 1967.
26. Burger, K., Ruff, I., Acta Chim. Acad, Sci. Hung., 45, 77, 1965.

CAPITOLUL 5

AGENȚI DE MASCARE

Așa cum s-a arătat deja, agenții de mascare sînt de regulă agenți complexanți care împiedică o anumită reacție, permițînd în schimb desfășurarea alteia. Pentru aprecierea eficienței unei reacții de mascare se utilizează factorul de mascare sau mai bine indicele de mascare.

Într-o anumită reacție de complexare, mascarea cu un agent complexant are loc numai dacă I.M. $>$ log K', deci numai dacă indicele de mascare este cu cîteva ordine de mărime mai mare decît constanta condițională de stabilitate a complexului, a cărui formare trebuie împiedicată prin mascare. Dacă însă I.M. $\ll$ logK', mascarea reacției de complexare nu mai are loc.

În general, un anumit agent de mascare nu acționează asupra unui anumit ion, ci asupra unor grupuri de ioni asemănători, din care cauză mascarea are de regulă o selectivitate mare, mai rar o specificitate mare. Însușirea unui ligand de a fi potrivit ca agent de mascare într-o reacție, depinde într-o mare măsură de aceeași factori de care depinde stabilitatea complecșilor, adică de felul atomilor donori (respectiv duritatea sau moliciunea lor), prin care ligandul se leagă de ionul metalic, și de valoarea pK_a a grupelor ionizabile din molecula ligandului. În general, efectul maxim de mascare se obține la valori ale pH-ului mai mici decît valoarea maximă a pK_a a liganzilor. Găsirea celui mai potrivit agent de mascare depinde deci de pK_a, de constanta de stabilitate a complexului care se formează (dependentă la rîndul ei de natura atomilor donori) și, în mai mică măsură, de efectele sterice.

Gradul de mascare se poate caracteriza cantitativ prin descreșterea constantelor condiționale la echilibru. Anterior s-a arătat că o reacție de mascare este completă cînd valoarea constantei condiționale este mai mică decît 100, dar mai mare decît 7.

5.1. AGENȚI DE MASCARE PENTRU CATIONI

Agenții de mascare utilizați pentru cationi se pot clasifica în funcție de atomii donori (oxigen, azot, sulf etc) care sînt implicați în formarea legăturilor metal-ligand, așa cum rezultă din tabelul 5.1 (După D. D. Perrin).

TABEL 5.1

Clasificarea agenților de mascare în funcție de natura atomilor donori.

Liganzi cu atomi donori de oxigen
Glicoli, polioli, acizi carboxilici (acetic, oxalic, malonic, malic, tartric, citric, gluconic etc.), ortodifenoli (pirocatechina, tiron), acizii salicilic și sulfosalicilic, β-dicetone (acetilacetona și derivați, dibenzoilmetanul) (la aceștia se mai pot adăuga ionul hidroxil, peroxidul de hidrogen, sulfatul și fosfații).
Liganzi cu atomi donori de azot
1,10-fenantrolina (și derivați), 2,2'-dipiridilul, etilendiamina, trietilentetramina (trien), tetraetilenpentamina (tetren), la care se mai pot adăuga amoniacul și ionul cianură.
Liganzi cu atomi donori de sulf
Ditiolii (dimercaptopropanolul-BAL, toluen-3,4-ditiolul, unitiolul), dietilditiocarbamatul de sodiu, tritiocarbonatul de potasiu, ionul sulfură.
Liganzi cu atomi donori de oxigen și azot
α-Aminoacizi (mai ales glicina), acizi aminopolicarboxilici (EDTA, NTA, CDTA etc), trietanolamina, N,N-dihidroxietilglicina etc.
Liganzi cu atomi donori de oxigen și sulf
Acizii tioglicolic, β-mercaptopropionic, dimercaptosuccinic.
Liganzi cu atomi donori de azot și sulf
Ditizona, tiosemicarbazida, cisteina, mercaptoetilamina etc.
Liganzi cu alți atomi donori
Fluoruri, cloruri, bromuri, ioduri.

Este de asemenea posibil să se indice pentru fiecare cation agenții de mascare mai uzuali și mai eficienți, așa cum rezultă din tabelul 5.2 (după D. D. Perrin).



TABEL 5.2

Agenți de mascare pentru cationi (după Perrin).

Cationul	Agenții de mascare
Ag^{+}	CN^{-}, I^{-}, Br^{-}, Cl^{-}, SCN^{-}, $S_2O_3^{2-}$, NH_3, TU, TGA, DDC, BHEDTC, citrat
Al^{3+}	F^{-}, BF_4^{-}, acetat, formiat, citrat, tartrat, oxalat, malonat, gluconat, salicilat, SSA, tiron, EDTA, TEA, acetilacetonat, BAL OH^{-}, unitiol.
As^{3+}	S^{2-}, BAL, unitiol, citrat, tartrat, $NH_2OH \cdot HCl$, OH^{-}
Au^{+}	CN^{-}, I^{-}, Br^{-}, Cl^{-}, SCN^{-}, $S_2O_3^{2-}$, NH_3, TU, BHEDTC
Ba^{2+}	CDTA, EDTA, EGTA, citrat, tartrat, DHG, F^{-}, SO_4^{2-}
Be^{2+}	citrat, tartrat, EDTA, tiron, SSA, acetilacetonat, F^{-}
Bi^{3+}	I^{-}, SCN^{-}, $S_2O_3^{2-}$, F^{-}, OH^{-}, DDC, TGA, unitiol, BAL, BHEDTC, MPA, DMSA, cisteină, ditizonă, TU, citrat, tartrat, oxalat, tiron, SSA, NTA, EDTA, PDTA, TEA, DHG, trifosfat, acid ascorbic
Ca^{2+}	NTA, EDTA, EGTA, DHG, tartrat, F^{-}, BF_4^{-}, polifosfat
Cd^{2+}	I^{-}, CN^{-}, $S_2O_3^{2-}$, SCN^{-}, DDC, BHEDTC, BAL, unitiol, cisteină, MPA, DMSA, DMPA, BCMDTC, ditizonă, TGA, citrat, tartrat, malonat, glicină, DHG, NTA, EDTA, NH_3, tetren, Pb-EDTA, 1,10-fenantrolină
Co^{2+}	CN^{-}, SCN^{-}, $S_2O_3^{2-}$, F^{-}, NO_2^{-}, citrat, tartrat, malonat, tiron, glicină, DHG, TEA, EDTA, TGA, DDC, BHEDTC, DMPA, DMSA, MPA, BAL, NH_3, en, tren, tetren, penten, 1,10-fenantrolină, dimetilglioximă, H_2O_2, trifosfat
Cr^{3+}	formiat, acetat, citrat, tartrat, tiron, SSA, DHG, NTA, EDTA, TEA, F^{-}, $P_2O_7^{4-}$, trifosfat, SO_4^{2-}, $NaOH+H_2O_2$, oxidare la CrO_4^{2-}, reducere cu acid ascorbic
Cu^{2+}	NH_3, en, trien, tetren, penten, 1,10-fenantrolina, tartrat, citrat, tiron, glicină, DHG, ac. picolinic, NTA, EDTA, HEDTA, S^{2-}, TGA, DDC, DMSA, DMPA, MPA, BCMDTC, BHEDTC, BAL, tiosemicarbazidă, tiocarbohidrazidă, cisteină, CN^{-}, TU, $S_2O_3^{2-}$, $SCN^{-} + SO_3^{2-}$, I^{-}, ac. ascorbic + KI, $NH_2OH \cdot HCl$, $Co(CN)_6^{3-}$, NO_2^{-}
Fe^{3+}	tartrat, oxalat, malonat, NTA, EDTA, TEA, acetilacetonat, tiron, SSA, DHG, OH^{-}, F^{-}, PO_4^{3-}, $P_2O_7^{4-}$, S^{2-}, tritiocarbonat, $S_2O_3^{2-}$, BAL, DMSA, MPA, BHEDTC, TGA, ac. oxinsulfonic, CN^{-}, reducere cu ac. ascorbic, $NH_2OH \cdot HCl$, SO_3^{2-}, $SnCl_2$, ac. sulfamic, TU, 1,10-fenantrolina, 2,2'-bipiridil
Hg^{2+}	CN^{-}, Cl^{-}, I^{-}, SCN^{-}, $S_2O_3^{2-}$, SO_3^{2-}, tartrat, citrat, NTA, EDTA, TEA, DHG, cisteină, TGA, BAL, unitiol, TU, DDC, BHEDTC, MPA, DMSA, tiosemicarbazida, tren, penten, reducere cu ac. ascorbic.

Mg^{2+}	citrat, tartrat, oxalat, tiron, glicol, NTA, EDTA, CDTA, TEA, DHG, OH^-, F^-, BF_4^-, $P_2O_7^{4-}$, hexametafosfat
Mn^{2+}	citrat, tartrat, oxalat, tiron, SSA, NTA, EDTA, CDTA, TEA, DHG, F^-, $P_2O_7^{4-}$, trifosfat, CN^-, BAL, oxidare la MnO_4^-, reducere la Mn(II) cu $NH_2OH \cdot HCl$ sau N_2H_4
Mo(VI)	citrat, tartrat, oxalat, tiron, NTA, EDTA, CDTA, DHG, F^-, trifosfat, H_2O_2, SCN^-, manitol, acid ascorbic, $NH_2OH \cdot HCl$
NH_4^+	HCHO
Ni^{2+}	citrat, tartrat, malonat, NTA, EDTA, SSA, DHG, glicină, ac. picolinic, F^-, CN^-, SCN^-, DDC, BCMDTC, BHEDTC, TGA, DMSA, DMPA, NH_3, tren, penten, 1,10-fenantrolina, dimetilglioxima, trifosfat
Pb^{2+}	acetat, citrat, tartrat, tiron, NTA, EDTA, TEA, DHG, OH^-, F^-, Cl^-, I^-, SO_4^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, TGA, BAL, unitiol, DMSA, DMPA, MPA, DDC, BCMDTC, BHEDTC, trifosfat, clorură de tetrafenilarsoniu
Sb^{3+}	citrat, tartrat, oxalat, TEA, F^-, Cl^-, I^-, OH^-, S^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, BAL, unitiol
Se(IV)	F^-, I^-, S^{2-}, SO_3^{2-}, tartrat, citrat, agenți reducători
Sn^{2+}	citrat, tartrat, oxalat, EDTA, TEA, F^-, Cl^-, I^-, OH^-, PO_4^{3-}, TGA, BAL, unitiol, oxidare cu apă de brom.
Sr^{2+}	citrat, tartrat, NTA, EDTA, DHG, F^-, SO_4^{2-}
Ti^{4+}	citrat, tartrat, gluconat, SSA, TEA, DHG, NTA, EDTA+H_2O_2, CDTA, tiron, manită, ac. ascorbic, ferona, OH^-, SO_4^{2-}, H_2O_2, trifosfat
Tl^+	citrat, tartrat, oxalat, TEA, DHG, NTA, EDTA, TGA, Cl^-, CN^-, $NH_2OH \cdot HCl$
U(VI)	carbonat de amoniu, citrat, tartrat, oxalat, EDTA, F^-, H_2O_2, PO_4^{3-}
V(V)	tartrat, oxalat, TEA, tiron, manită, EDTA, CN^-, H_2O_2, oxidare la vanadat, reducere cu ac. ascorbic sau cu $NH_2OH \cdot HCl$
Zn^{2+}	citrat, tartrat, glicol, glicerină, NTA, DHG, EDTA, CDTA, NH_3, tren, penten, 1,10-fenantrolină, glicină, CN^-, OH^-, SCN^-, $Fe(CN)_6^{4-}$, BAL, unitiol, ditizonă, PAN, trifosfat

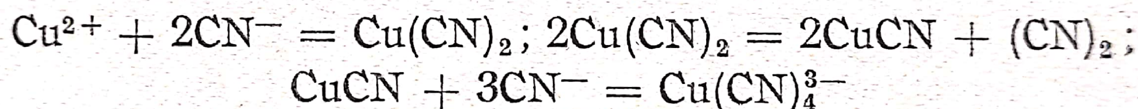
Abreviațiuni: BAL = 2,3-dimercaptopropanol; BCMDTC = bis(carboximetil) ditiocarbamat; BHEDTC = bis (2-hidroxietil) ditiocarbamat); CDTA = ac. ciclohexan-diaminotetraacetic; DDC = dietilditiocarbamat; DHG = N,N-dihidroxietilglicină; DMPA = ac. 2,3-dimercaptopropionic; DMSA = ac. dimercaptosuccinic; DTPA = ac. dietilentriaminopentaacetic; EGTA = ac. etilenglicol-bis(2-aminoetileter) tetraacetic; TU = tiouree; en = etilendiamină; HEDTA = ac. 2-hidroxietiletilendiaminotetraacetic; MPA = ac. β-mercaptopropionic; NTA = ac. nitrilotriacetic; PDTA = ac. propilendiaminotetraacetic; tren = triaminotrietilamină; tetren = tetraetilenpentamina; penten = pentaetilenhexamina; SSA = ac. sulfosalicilic; TEA = trietanolamina; TGA = ac. tioglicolic.

Din acest tabel se observă că un agent de mascare nu este caracteristic unui singur ion, ci mai multor ioni. În continuare se prezintă unii dintre agenții de mascare mai frecvent utilizați pentru cationi.

5.1.1. Agenți de mascare ce conțin atomi donori de azot

Din această grupă fac parte anionul cianură, 2,2'-dipiridilul, etilendiamina și alte poliamine ca trien, tetren etc., amoniacul etc.

a) *Ionul cianură.* Conform teoriei lui Pearson, CN^- este un ligand bază moale, prin urmare formează complecșii cei mai stabili cu ionii metalici acizi moi, deci cei ai metalelor tranziționale din grupele IB, IIB și VIIIB. În schimb, acest ligand are o tendință de complexare redusă față de ionii metalici acizi duri, cum sînt cei ai metalelor alcaline și alcalino-pămîntoase. Ionul cianură reduce Cu(II) la Cu(I) (degajînd dician, degajare ce poate fi evitată prin reducerea prealabilă a cuprului) care este apoi complexat:



$$Cu^{2+} + 2CN^- = Cu(CN)_2;\ 2Cu(CN)_2 = 2CuCN + (CN)_2;$$
$$CuCN + 3CN^- = Cu(CN)_4^{3-}$$

În general, complexarea nu se face cu acid cianhidric, foarte volatil și foarte toxic, ci cu cianură în mediu bazic sau slab acid. Pentru a evita hidroliza cationilor, se adaugă mai întîi un alt agent complexant mai slab, cum este tartratul, se tamponează cu amoniac și se adaugă cianura. Eficiența mascării cu cianură descrește în ordinea:

Hg(II)—38 > Pt(II)—37 > Au(I)—36 > Tl(III)—31 > Ni(II)—27 > Cu(I)—26 > Ag(I)—19 > Cd(II)—15 > Zn(II)—13, așa cum rezultă din valorile indicilor de mascare scriși în dreptul fiecărui ion. Deoarece complecșii cianici ai ionilor metalelor tranziționale sînt foarte stabili, acești ioni nu pot fi determinați cu EDTA în mediu de cianură, dar se pot identifica, în prezența lor, ionii de Bi(III), Al(III), Mn(II), Pb(II), Mg(II) etc.

Demascarea cationilor din cianocomplecșii lor se face prin acidularea soluțiilor (în acest caz sînt necesare măsuri de protecție față de acidul cianhidric), iar în cazul complecșilor ionilor Zn(II) și Cd(II), demascarea se poate face și cu aldehidă formică.

b) *Amoniacul.* Acesta se utilizează în concentrații relativ mari deoarece este un agent complexant mai slab, avînd capaci-

tatea maximă de mascare la pH $> 9,5$. La acest pH trebuie să se țină seama de hidroliza cationilor. Amoniacul manifestă cea mai accentuată tendință de coordinare față de ionii metalelor tranziționale și față de cei cu substrat d complet (cu structură a învelișului electronic exterior de 18 electroni). Această comportare preferențială este dovedită de modul în care variază indicele de mascare în seria : Au(I)—29, Au(III)—26, Hg(II)—16, Tl(III)—13, Cu(I, II)—9, Ag(I)—5, Zn(II)—5, Ni(II)—4, Cd(II)—3.

În sfîrșit, amoniacul are o tendință de coordinare foarte mică față de ionii cu structură de 2 și de 8 electroni (inclusiv față de ionii lantanidelor), deoarece, pe de o parte, amoniacul are o constantă dielectrică mai mică decît a apei, iar pe de altă parte, acești ioni sînt polarizanți slabi și puțin polarizabili.

c) *Aminele*. Dintre acestea numai diaminele și poliaminele pot fi luate în considerare pentru mascarea cationilor, deoarece acestea pot forma complecși mai stabili prin chelatare. S-a arătat că efectul de chelatare mărește considerabil stabilitatea complecșilor metalici, în mediu slab acid sau neutru. Așa de exemplu, 1,10-fenantrolina ($pK_a = 5$) și 2,2′-dipiridilul ($pK_a = 4$) acționează ca agenți de mascare chiar la pH < 6, în timp ce etilendiamina ($pK_a = 10,1$ și 7,3) sau propilendiamina ($pK_a = 10,0$) sînt agenți de mascare numai în mediu bazic. o—Fenantrolina poate masca ionii Cd(II), Cu(II), Co(II), Ni(II), Mn(II) la pH $= 5,5$ față de EDTA, ceea ce face posibilă determinarea selectivă a Al(III), Pb(II) și a lantanidelor cu EDTA [1], în prezența ionilor mascați. Datorită capacității sale de complexare mari, fenantrolina se poate utiliza la determinarea cu EDTA a ionilor Co(II), Cu(II) și Pb(II) [2] în prezența xilenoloranjului, deoarece, în porțiuni mici, ea împiedică blocarea xilenoloranjului de către alți ioni, cu care fenantrolina formează complecși mai stabili.

Trietilentetramina (trien) se utilizează ca agent de mascare a ionilor Cu(II) și Hg(II) la pH 5, ceea ce permite determinarea Zn(II) sau a Pb(II) cu EDTA în prezența xilenoloranjului [3] (în prezența cuprului și a mercurului).

În sfîrșit, tetraetilenpentamina (tetren) este un agent de mascare foarte bun pentru mai mulți ioni, printre care Cu(II), Zn(II), Cd(II), Hg(II), Co(II), Ni(II), ceea ce face posibilă determinarea, în prezența acestor ioni, a Mg(II), Ba(II), Pb(II) cu EDTA [4].

5.1.2. Agenți de mascare ce conțin atomi donori de oxigen

În această clasă de agenți de mascare se încadrează alcoolii, (poliolii de tipul glicolilor), unii polifenoli, acizii carboxilici și acizii alcooli (acetic, oxalic, tartric, citric, gluconic etc), unele β-dicetone (acetilacetona și derivați), acidul salicilic și derivați etc.

a) *Acetilacetona.* Dintre β-dicetone, acetilacetona este agentul de mascare cel mai utilizat, avînd efectul, de mascare maxim la $pH > 9$. Însă, în mediu alcalin, acest agent de mascare, respectiv anionul acetilacetonat, este puțin stabil, de aceea acetilacetona se utilizează în soluții neutre sau chiar acide. Valorile indicelui de mascare la $pH \sim 7$, a unei soluții $10^{-1}M$ de acetilacetonă sînt relativ mari pentru următorii cationi (pe care-i maschează chiar la pH 5—6): Al(III)—13, Fe(III)—17, U(IV)—18, U(VI)—8, Be(II)—8, Zr(IV)—19, de aceea, în prezența acestor ioni, este posibilă determinarea cu EDTA a acelor ioni pe care acetilacetona nu-i maschează; indicii de mascare avînd valori foarte mici [5]: Cd(II)—0,4, Zn(II)—3, Pb(II)—1, Mn(II)—1, Ni(II)—4, Co(II)—3 etc. Acetilacetona mai poate fi utilizată desigur și la alte determinări în afară de cele menționate.

b) *Acizi carboxilici.* Dintre acești agenți de mascare mai frecvent utilizați sînt acizii acetic, oxalic, tartric și citric.

Acidul acetic. Conform teoriei lui Pearson, ionul acetat este un ligand bază-dură, dar el nu formează cu cationii acizi-duri, complecși stabili așa cum ar fi de așteptat. În general, anionul acetat este un ligand slab pentru cationii bivalenți, exceptînd ionul Pb(II), care mascat cu o soluție 1M de acid acetic nu mai poate precipita ca sulfat și nici nu poate fi determinat cantitativ cu EDTA. În schimb, acetatul este un agent de mascare destul de bun pentru cationii trivalenți și chiar tetravalenți, cu care formează complecși stabili și pentru care indicii de mascare au valorile: Fe(III)—8, Cr(III)—8, In(III)—9, Ti(III)—15.

Acidul oxalic este un agent de mascare foarte bun (chiar mai bun decît acidul citric) pentru ionii Al(III), Th(IV), Mn(III), Fe(III) etc. Avînd în vedere că mulți oxalați, cum sînt cei ai metalelor alcalino-pămîntoase și ai altor metale, sînt greu solubili, utilizarea acidului oxalic ca agent de mascare este limitată. În unele cazuri, acidul oxalic este totuși un agent de mascare foarte selectiv. Așa de exemplu el poate demasca la pH 2,5—3,5 Sn(IV) din complexul Sn(IV)—EDTA, iar în aceste condiții este posibilă determinarea indirectă a Sn(IV) cu EDTA.

Anionul citrat poate forma complecşi chelaţi stabili cu unii cationi sau precipitate greu solubile, fiind un agent de mascare foarte bun pentru Ca(II) şi Mg(II), care sînt împiedicaţi să precipite ca sulfat şi carbonat, respectiv magneziul ca şi fluorură. În mediu puternic alcalin, pH 13 este un agent de mascare puternic pentru unii cationi, trivalenţi ai căror indici de mascare sînt mari: Al(III)—26, Fe(III)—22, dar este un complexant mediu pentru unii cationi bivalenţi ca Zn(II)—8, Cd(II)—8. Citratul poate masca, la pH 6,5—7,5, ionii Bi(III), Cr(III), Fe(III), Sb(V), Sn(IV), Ti(IV), Mo(IV, VI), W(VI) şi alţii, în aceste condiţii putînd fi determinaţi cu EDTA cationii Cu(II), Zn(II), Cd(II), Hg(II), Pb(II) [6], în prezenţa ionilor pe care-i maschează.

În sfîrşit, *acidul tartric* formează complecşi mai puţin stabili decît acidul citric, cu foarte puţine excepţii. Astfel, tartratul poate masca Mg(II) (ionul Ca(II) putînd fi determinat în prezenţa magneziului), Al(III) şi Fe(III) (ionul Mn(II) putînd fi determinat în prezenţa lor cu EDTA) etc. Anionul tartrat este, în schimb utilizat, ca dealtfel şi citratul, pentru a împiedica hidroliza sărurilor unor cationi polivalenţi şi precipitarea hidroxizilor acestora în mediu alcalin; printre cationii mascaţi în acest scop sînt Al(III), Fe(III), Cr(III), Ti(IV), Zr(IV), Sb(V), Mn(II) etc. În cazul Mn(II), mascarea trebuie să se facă în prezenţa acidului ascorbic sau a hidroxilaminei-HCl, care împiedică oxidarea manganului.

5.1.3. Agenţi de mascare ce conţin atomi donori de sulf

Din această grupă de agenţi de mascare fac parte unii tioli (dimercaptopropanolul-BAL, unitiolul), unii mercaptoacizi (ac. tioglicolic, dimercaptopropionic), dietilditiocarbamatul, tioureea, tiocarbohidrazida, tiosemicarbazida etc.

2,2-*Dimercaptopropanolul* (BAL), utilizat şi în terapia intoxicaţiilor cu metale grele, este un agent de mascare bun pentru Ag(I), As(III), Bi(III), Cd(II), Zn(II), Hg(II), Pb(II), Sn(II, IV), Sb(III) (în aceste condiţii se pot determina cu EDTA, în mediu amoniacal, Mg(II), Ca(II), Mn(II) etc). Acest ligand este însă relativ puţin stabil. Deşi BAL formează complecşi stabili cu ionii Mn(III), Fe(III), Co(III), Ni(III), Cu(II), el nu se poate utiliza ca agent de mascare pentru aceşti ioni, datorită coloraţiei destul de intense a complecşilor formaţi [7].

În loc de BAL, se poate utiliza unitiolul (ac. 2,3-dimercaptopropan-1-sulfonic), mai solubil în apă şi mai stabil. El

poate masca, în mediu amoniacal, Bi(III), As(III), Sb(III), Sn(II), Pb(II), Zn(II), Cd(II), Hg(II) și aceasta permite determinarea, în prezența lor, a Ca(II), Sr(II), Ba(II), Mg(II) cu EDTA, precum și ionii lantanidelor [8], iar la pH 10 și ionii Mn(II) și Ni(II).

Acidul ditiocarbaminoacetic este un agent de mascare cu aplicații mai restrînse, însă are avantajul de a putea fi utilizat în mediu acid, iar complecșii săi sînt solubili în apă. Spre exemplu, la pH 2—3, poate masca Bi(III), In(III), Tl(III) (dar nu și Al(III), Th(IV) care pot fi determinați cu EDTA), iar la pH 5—6, maschează ionii Cd(II), Hg(II), Pb(II) (dar nu și Zn(II), Mn(II), La(III) etc) [9]. În acest fel, se pot analiza amestecuri binare ale unor ioni ca Mn/Pb, Zn/Cd, Ni/Cd, Zn/Hg etc.

Alți liganzi cu sulf au mai puține utilizări ca agenți de mascare.

5.1.4. Agenți de mascare cu atomi donori de oxigen și azot

Din această grupă fac parte unii aminoacizi, complexonii sau acizii aminopolicarboxilici (NTA, EDTA, CDTA, EGTA, ACATA etc), trietanolamina, N,N-dihidroxietilglicina etc.

EDTA (acidul etilendiaminotetraacetic) se pare a fi cel mai bun agent de mascare din această clasă, avînd cele mai mai multe aplicații în mascare și în terapia prin mascare, fiind și cel mai studiat; EDTA are unele avantaje certe, printre care stabilitate mare în condiții normale, inclusiv în soluție, la căldură; fiind un ligand hexadentat, formează cu toți cationii complecși chelați cu simetrie octaedrică, în anumite condiții de pH. Pe de altă parte mulți complexonați sînt incolori și solubili în apă (există și complexonați colorați). În plus, EDTA se poate întrebuința și în prezența altor agenți de mascare. Selectivitatea EDTA depinde de pH (complexonații cationilor bivalenți sînt stabili la pH mai mare decît 7, iar cei ai cationilor trivalenți sînt stabili și în mediu acid), de natura ionilor generatori, de prezența altor agenți de mascare etc., de unde rezultă că EDTA (ca dealtfel orice agent de mascare) se poate utiliza numai în anumite condiții.

De exemplu, la pH 3,7—5,7, EDTA maschează majoritatea cationilor dar nu și V(V), Mo(IV,VI), W(VI), astfel că aceștia se pot precipita cu alți reactivi, cum este oxina [10], sau, pe baza labilității mari a complexului U(VI)-EDTA, este posibilă extracția uraniului cu amestec de tributil fosfat-cloroform, în

prezența unor ioni ai metalelor tranziționale, ca Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), care se pot masca cu EDTA [11].

EDTA se utilizează frecvent în determinări cu alți reactivi cărora, prin efectul său de mascare a ionilor interferenți, le mărește selectivitatea. În prezența EDTA se pot determina spectrofotometric, cu dietilditiocarbamat, ionii de Bi(III) și Cu(II), ai căror complecși sînt mai stabili decît complexonații corespunzători [12]. Totuși, utilizarea EDTA este limitată de faptul că unii dintre complexonați sînt colorați și deci împiedică determinarea spectrofotometrică (este vorba despre complexonații Co(II), Cr(III), Mn(II), Mo(VI), Ni(II), Pd(II), Pt(II, IV), V(V), Ti(IV), U(IV, VI) etc.).

Ionii Ca(II), Sr(II), Ba(II) sînt complexați de către EDTA în mediu amoniacal, astfel că nu mai pot precipita oxalații și sulfații lor. Capacitatea de mascare a EDTA față de acești cationi este mică în mediu acid și precipitarea oxalaților, dar mai ales a sulfaților corespunzători, poate avea loc. De asemenea, în prezența EDTA nu pot precipita iodurile de Pb(II) și Bi(III), precum nici sulfurile de Co(II) și Ni(II). Dar dacă dorim să precipităm ionii de cobalt și de nichel ca sulfură, ei pot fi demascați din complecșii EDTA cu ioni de calciu care-i deplasează.

Ionii Ag(I), Hg(I), Tl(I) și Be(II) nu pot fi complexați cu EDTA, de aceea, acești ioni se pot determina în prezența celorlalți ioni pe care-i maschează EDTA.

În sfîrșit, toți ionii complexați cu EDTA se pot demasca prin deplasare cu ioni de calciu în exces.

Dintre ceilalți (foarte numeroși) acizi aminopolicarboxilici sînt utilizați foarte puțini, deoarece modificările structurale pe care le produc prin coordinare sînt mici, iar reflectarea lor în stabilizarea complecșilor sînt de asemenea neînsemnate. Este relativ mai frecvent utilizat acidul ciclohexandiaminotetraacetic (CDTA), ligand hexadentat, ai cărui complexonați sînt ceva mai stabili decît cei ai EDTA, probabil din cauza structurii sale mai rigide, care stabilizează complecșii. În mai mică măsură se utilizează acidul dietilentriaminopenta acetic, care, fiind un ligand octadentat, coordinează foarte bine cu ionii tri și tetravalenți, mai ales ai metalelor grele. În sfîrșit, utilizările acidului nitrilotriacetic (NTA) sînt de asemenea mai restrînse, ca dealtfel și cele ale acidului antranil-N,N-diacetic (o-carboxianilindiacetic) [13] și cele ale dihidroxietilglicinei [14].

Trietanolamina (TRI). Trietanolamina se utilizează ca agent de mascare mai ales pentru cationii metalelor grele ca Fe(III), Mn(II), Sn(II), Co(II), Cr(III), ca și pentru mascarea Al(III).

Trietanolamina se poate utiliza pentru mascarea cantităților mici de Mn(II), Al(III) și Fe(III), în determinările cu EDTA [15] (TRI împiedică precipitarea acestor ioni). Dar trebuie avut în vedere că trietanolamina determină o creștere însemnată a pH-ului soluției, ceea ce poate produce precipitarea unor hidroxizi care se redizolvă încet, cum este cazul $Fe(OH)_3$ coloidal. De aceea, soluțiile ionilor ce urmează a fi mascați trebuie să fie acide.

În cazul Mn(II) trebuie evitată oxidarea acestuia (cu clorhidrat de hidroxilamină) la Mn(III), care formează cu trietanolamina un complex colorat în roșu-intens. De asemenea, la determinarea Ca(II) și Mg(II) cu EDTA, în prezența Bi(III), acesta din urmă se poate masca cu TRI [16], ca dealtfel și Co(II) la determinarea Ni(II), care nu este mascat [17], (și în acest caz trebuie evitată oxidarea Co(II) la Co(III), deoarece acesta din urmă formează cu TRI un complex roșu).

5.1.5. Agenți de mascare cu atomi donori de oxigen și sulf

Dintre acești agenți de mascare, mai frecvent este utilizat acidul tioglicolic, care, în mediu de tampon amoniacal, poate masca ionii Ag(I), Zn(II), Cd(II), Hg(II), Pb(II), Sn(II) față de EDTA, dar nu maschează în aceste condiții ionii Co(II) și Ni(II) [18]. Avînd în vedere aceste comportări, este posibilă determinarea în prezența ionilor mascați a Co(II), Ni(II), Cu(II) Fe(III), Ca(II), Mg(II) etc.

Se mai poate utiliza și acidul dimercaptosuccinic pentru mascarea Bi(III) și a Fe(III), acidul 3-mercaptopropionic, pentru mascarea Cu(II), Hg(II), Fe(II), Co(II), Bi(III) [19] etc.

5.1.6. Agenți de mascare, anioni anorganici

Din această grupă fac parte anionii de halogenură (F^-, Cl^-, Br^-, I^-), de pseudohalogenură (SCN^-, ionul de cianură a fost tratat la început), ionii hidroxil, carbonat, ortofosfat etc.

Anionii de halogenură, provenind de la acizi tari, eficacitatea lor în procesul de mascare nu este influențată de pH-ul soluției (cu excepția F^-, acidul fluorhidric fiind un acid de tărie mijlocie).

Însă capacitatea de complexare a Cl^- și I^- este limitată de faptul că unii compuși sînt parțial ionizați ($HgCl_2$) sau greu solubili (AgI). În cazul Cu(II) are loc reducerea acestuia la

Cu(I), care precipită ca și CuI greu solubilă. Totuși, această comportare este utilizabilă practic la determinarea altor ioni, deoarece Cu(I) nu poate interfera (în funcție de metoda de determinare, iodul se poate reduce cu acid ascorbic dacă este nevoie).

Ionul F^- poate fi utilizat la mascarea Ca(II) și a Mg(II), ceea ce permite determinarea Zn(II) cu EDTA, în prezența calciului și a magneziului. De asemenea, ionul F^- poate masca Al(III), Fe(III), Sn(IV), Ti(IV), Zr(IV), Be(II), acidul boric etc.

În sfîrșit, ionul I^- se poate utiliza la determinarea selectivă a Hg(II), deoarece iodura poate deplasa EDTA din complexul Hg-EDTA, deci complexonul poate fi titrat cu Zn(II) sau cu Mg(II) [20].

Ionul hidroxil poate masca Al(III), Zn(II), Pb(II) dar numai în soluții puternic alcaline ($pH > 10$), cînd rezultă tetrahidroxocomplecșii respectivi, solubili.

Anionul tiocianat poate servi la mascarea Hg(II), Zn(II), Ag(I) etc., iar tiosulfatul la mascarea Cu(II), Hg(II), Tl(III) etc.

5.1.7. Alegerea agenților de mascare pentru cationi

Este lesne de înțeles că utilizarea agenților de mascare nu se face la întîmplare, la alegerea lor fiind necesar să se țină seama de anumiți factori.

În primul rînd, este necesar să se țină seama de ionii care trebuie mascați și de complecșii care trebuie să se obțină. Legat de aceasta, trebuie avute în vedere condițiile în care are loc formarea complecșilor, respectiv de concentrațiile absolute ale ionilor metalici și ale agenților de mascare, de pH-ul soluției ce trebuie realizat, de alți reactivi necesari (de exemplu, indicatorii), de felul reacției principale, de eventualele reacții secundare care pot avea loc paralel cu reacția principală etc.

Pe de altă parte, este de dorit ca în procesul de mascare să se formeze complecși incolori, solubili în apă. Așa de exemplu, urmele de Cu(II) se pot masca prin complexare cu dietilditiocarbamat. Dar complexul care se formează are dezavantajul că este intens colorat și greu solubil, ceea ce împietează asupra determinărilor prin diverse metode chimice și instrumentale. De asemenea, se poate îmbunătăți selectivitatea mascării prin utilizarea unui exces mare dintr-un agent de mascare potrivit. În acest caz însă, excesul de agent de mascare influențează negativ asupra sensibilității reacției principale (aceasta scade).

De aceea se alege de regulă o concentrație optimă a agentului de mascare care este de obicei substoechiometrică [21], respectiv se utilizează o cantitate de agent de mascare mai mică decît aceea necesară unei mascări complete. În general, concentrațiile substoechiometrice perturbă cel mai puțin reacția principală, care constituie baza determinării. Flaschka și Garett [21] au observat că la determinarea polarografică a Zn(II) în prezența Cd(II), mascarea cadmiului cu cantități substoechiometrice din agentul de mascare, determină, pe de o parte, micșorarea înălțimii undei cadmiului, iar, pe de altă parte, suprapunerea ei peste unda zincului ; acest fapt ușurează determinarea zincului, în timp ce un exces de agent de mascare împietează asupra determinării, acesta putînd complexa și zincul.

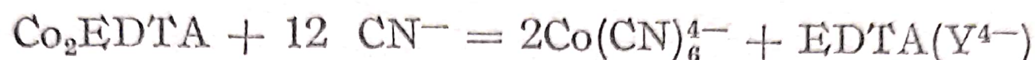
Ar fi greșit să se înțeleagă prin concentrații substoechiometrice concentrații mici, deoarece aplicațiile acestui concept se referă, de regulă, la cantități din agentul de mascare de peste 90% (și chiar 99,9%) din cantitatea stoechiometrică necesară pentru o mascare completă.

În sfîrșit, selectivitatea mascării se poate îmbunătăți prin utilizarea concomitentă a agentului de mascare și a unui alt cation, a cărui capacitate de a forma complecși să fie intermediară între aceea a ionului de determinat și a celui ce trebuie mascat. Așa, de exemplu, la determinarea Cu(II) cu dietilditiocarbamat [22] se utilizează exces de ioni de plumb (II), care maschează ionii Bi(III), Fe(III), Co(II), Ni(II) etc, prin deplasare. Alteori ionul metalic străin adăugat poate micșora concentrația agentului complexant, ceea ce de asemenea are un efect favorabil asupra reacției principale.

5.2. AGENȚI DE MASCARE PENTRU ANIONI

Din datele prezentate anterior s-a văzut că anionii pot fi agenți de mascare pentru cationi, dar nu s-a insistat asupra complecșilor cu liganzi anorganici, deși toți anionii monoatomici sau poliatomici anorganici pot fi utilizați ca agenți de mascare pentru cationi. Dar dintre cationi, foarte puțini pot fi utilizați ca agenți de mascare pentru anioni și aceasta pentru că reacțiile de complexare nu se realizează în orice condiții. De exemplu, pentru complexarea argintului se poate utiliza ionul de cianură, rezultînd complexul anionic $Ag(CN)_2^-$, stabil și solubil în apă. Invers, ionul de cianură nu se poate complexa și deci masca cu Ag(I), deoarece, în acest caz, nu se mai formează complexul anionic dicianoargentat ci, cianură de argint, precipitat alb,

greu solubil în apă. În schimb, ionul de cianură se poate masca cu ioni Co(II), cînd se formează complexul anionic $Co(CN)_6^{4-}$ foarte stabil ($K_i = 8,13 \cdot 10^{-20}$) și solubil. Mascarea acestuia se poate realiza cu Co_2EDTA, cînd are loc reacția de deplasare a EDTA de către anionul de cianură, complexul Co_2EDTA fiind mai puțin stabil:



$$Co_2EDTA + 12\ CN^- = 2Co(CN)_6^{4-} + EDTA(Y^{4-})$$

Pe această reacție se bazează tratamentul intoxicațiilor cu cianură, deoarece complexul hexacianocobaltoat (II) nu este toxic [23, 24].

O situație similară se întîlnește și în cazul unor molecule neutre, care se utilizează ca agenți de mascare pentru cationi. Amoniacul se utilizează ca agent de mascare pentru ionul Cu(II), dar mascarea inversă a amoniacului cu ioni de cupru nu este posibilă.

În general, majoritatea așa-zișilor agenți de mascare pentru anioni, nu sînt de fapt agenți de mascare, ci substanțe care distrug (sau transformă) anionii în compuși în care anionii sînt complet modificați. De exemplu, mascarea ionului nitrit se face cu acid sulfanilic, din reacție rezultînd o sare de diazonium și nu un complex nitrit. În acest fel, trebuie înțeleși majoritatea agenților de mascare pentru anionii înscriși în tabelul 5.3.

TABELUL 5.3

Agenți de mascare pentru anioni și molecule neutre (după D. D. Perrin).

Anionul sau molecula neutră	Agenții de mascare
Ac. boric	F^-, tartrat (și alți hidroxiacizi), glicoli.
Br^-	Hg(II)
Br_2	fenol, ac. sulfosalicilic
BrO_3^-	reducere cu $NH_2\ OH \cdot HCl$, SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, AsO_2^-
citrat	Ca(II)
CrO_4^{2-}, $Cr_2O_7^{2-}$	reducere cu $NH_2OH \cdot HCl$, N_2H_4, SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, AsO_2^-, ac. ascorbic
Cl^-	Hg(II), Sb(III)
Cl_2	SO_3^{2-}
ClO_3^-	reducere cu $S_2O_3^{2-}$
ClO_4^-	reducere cu SO_3^{2-}, $NH_2OH \cdot HCl$
CN^-	Hg(II), HCHO, $CH_3CH(OH)_2$, ioni metalici tranziționali
EDTA	Cu(II)
F^-	H_3BO_3, Al(III), Be(II), Zr(IV), Th(IV), Ti(IV), Fe(III)
$Fe(CN)_6^{3-}$	$NH_2OH \cdot HCl$, N_2H_4, $S_2O_3^{2-}$, AsO_2^-, ac. ascorbic
I^-	Hg(II)

Continuare Tabelul 5.3

Anionul sau molecula neutră	Agenţii de mascare
I_2	$S_2O_3^{2-}$
IO_3^-	SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, N_2H_4
IO_4^-	SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, N_2H_4, AsO_2^-, ac. ascorbic
MnO_4^-	reducere cu $NH_2OH \cdot HCl$, ac. ascorbic, NaN_3, N_2H_4, SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, AsO_2^-, ac. oxalic
NO_2^-	uree, ac. sulfanilic, ac. sulfamic, Co(II)
Oxalat	MoO_4^{2-}, MnO_4^-
Fosfat	tartrat, Fe(III)
S	CN^-, S^{2-}, SO_3^{2-}
S^{2-}	$KMnO_4 + H_2SO_4$, S
SO_3^{2-}	Hg(II), HCHO, $KMnO_4 + H_2SO_4$
$S_2O_3^{2-}$	$MnO_4^{2} + H_2O_2 + H_2SO_4$
SO_4^{2-}	Cr(III) + căldură

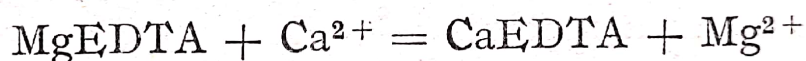
BIBLIOGRAFIE

1. Pribil, R., Vydra, F., Coll. Czech. Chem. Comm., 24, 3103, 1959.
2. Pribil, R., Talanta, 3, 91, 1959.
3. Reilley, C. N., Schmid, R. W., Anal. Chem., 31, 887, 1959.
4. Reilley, C. N., Schmid, R. W., Sadek, F. S., J. Chem. Ed., 36, 555 şi 619, 1959.
5. Jablonski, W. Z., Johnson, E. A., Analyst, 85, 297, 1960.
6. Fritz, J. S., Richard, M. J., Krraker, S. K., Anal. Chem. ,30, 1347, 1958.
7. Pribil, R., Roubal, Z., Coll. Czech. Chem. Comm., 19, 1162, 1954.
8. Morachevskii, Y. V., Vol'f, L. A., Zh. Analit. Khim., 15, 656, 1960.
9. Budevsky, O., Russeva, E., Mesrob, B., Talanta, 13, 277, 1966.
10. Pribil, R., Malat, M., Coll. Czech. Chem. Comm., 15, 120, 1950.
11. Kasiura, K., Minczewski, J., Nuckleonika, 11, 399, 1966.
12. Cheng, K. L., Bray, R. H., Melsted, S. W., Anal. Chem., 27, 24, 1955.
13. Betteridge, D., West, T. S., Anal. Chim. Acta, 26, 101, 1962.
14. Byrn, E. E., Robertson, J. H., Anal. Chim. Acta, 12, 34, 1955.
15. Pribil, R., Coll. Chem. Comm., 19, 58, 1954.
16. Barcza, L., Acta Chim. Acad. Sci. Hung., 29, 156, 1962.
17. Pribil, R., Talanta, 12, 925, 1965.
18. Pribil, R., Vesely, V., Talanta, 8, 88, 1961.
19. Yamagucki, K., Ueno, K., Talanta, 10, 1195, 1963.
20. Ueno, K., Anal. Chem., 29, 1668, 1957.
21. Flaschka, H., Garrett, J., Talanta, 15, 589, 1968.
22. Cyrankowska, M., Downarowicz, J., Chem. Anal. (Warsaw), 10, 1015, 1965.
23. Terzic, M., Milosevic, M., Therapie, 18, 55, 1963.
24. Wehrheim, H., Jacobs, K., Z. Arbeitsmed. Arbeitsschutz., 15(5), 107, 1965.

CAPITOLUL 6

DEMASCAREA REACȚIILOR

Prin demascare se înțelege procesul invers mascării, adică eliberarea ionului mascat printr-o reacție de deplasare (sau altă categorie de reacție), astfel încît ionul eliberat să poată da din nou reacțiile sale normale. De exemplu, demascarea unui cation dintr-un complex dat se poate face cu un alt cation, care are o afinitate mai mare pentru ligandul utilizat la mascare, cationul mascat fiind astfel deplasat și eliberat. Astfel, ionul Mg (II) din MgEDTA, poate fi demascat cu ioni Ca(II), prin deplasare, deoarece complexul CaEDTA este mai stabil:



$$MgEDTA + Ca^{2+} = CaEDTA + Mg^{2+}$$

Demascarea reacțiilor se poate face prin mai multe metode, ce se descriu succint în continuare.

6.1. DEMASCAREA PRIN MODIFICAREA pH-ului

Această metodă se bazează pe dependența stabilității majorității complecșilor metalici de pH. Prin urmare, rezultă că prin simpla modificare a pH-ului soluției se poate realiza demascarea ionilor. În acest fel se pot demasca ionii din complecșii lor cu anioni ai acizilor slabi. De exemplu, demascarea ionilor Cd(II), Zn(II), Ni(II) din complecșii lor cianici se face prin acidularea soluției cu acid clorhidric, cînd rezultă acid cianhidric. Această comportare se poate utiliza la determinarea complexonometrică diferențială a unor cationi. De exemplu într-o soluție ce conține ioni Ca(II) și Zn(II), se poate masca zincul cu cianură, iar calciul se poate determina cu EDTA. Apoi se demască zincul prin acidulare și se poate și el determina cu EDTA [1] (la acidularea cianocomplecșilor Ag (I) și Cu(I) precipită cianurile de argint și de cupru corespunzătoare).

Un alt exemplu îl oferă demascarea ionilor metalici din complexonații lor. Bunăoară, pentru demascarea Ba(II) din complexul BaEDTA, se modifică pH-ul soluției prin acidulare cu acid acetic pînă la pH 5, cînd ionul Ba(II) eliberat dă reacțiile sale normale cu cromat, sulfat, rodizonat etc. (cu acid acetic nu se pot demasca însă molibdenul și wolframul și nici lantanidele din complecșii lor cu EDTA).

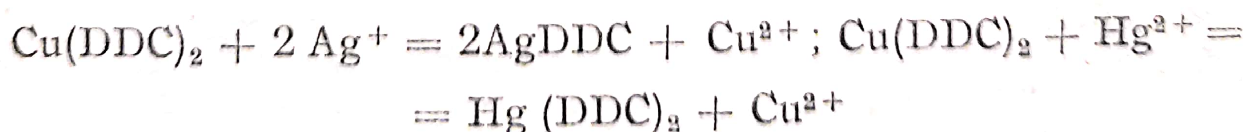
Demascarea prin scăderea pH-ului se explică prin micșorarea concomitentă a constantelor condiționale de formare a complecșilor cu EDTA. În general, demascarea diferențiată a complexonaților metalici ai EDTA și CDTA, prin modificarea pH-ului soluțiilor lor, are numeroase aplicații practice la determinările diferențiale ale ionilor din soluții multicomponente [2,3,4].

Tot prin modificarea pH-ului, respectiv prin acidulare, se pot demasca și ionii complexați cu amoniac sau cu baze organice. Prin acidularea soluțiilor complecșilor cationici $Cu(NH_3)_4^{2+}$, $Cuen_2^{2+}$, $CuPy_2^{2+}$, culoarea albastră intensă a acestora dispare, ceea ce arată că acești complecși se descompun, iar ionul cupru este eliberat.

În sfîrșit, demascarea prin modificarea pH-ului se poate aplica și în cazul complecșilor cu ionul hidroxil (complecșii hidroxo), ca și în cazul precipitatelor de hidroxizi greu solubili. În acest fel, se pot demasca ionii Al(III) și Zn(II) din complecșii anionici $Al(OH)_4^-$ respectiv $Zn\ (OH)_4^{2-}$, precum și ionul de Mg(II) din hidroxidul de magneziu (acidularea se face pînă la pH 5, respectiv la pH < 9).

6.2. DEMASCAREA PRIN DEPLASARE

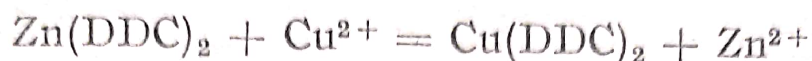
Prin această metodă se pot demasca, fie cationi cu alți cationi, care manifestă o afinitate mai mare față de ligand, fie anioni cu alți anioni care au afinitate mai mare față de un ion metalic. Spre exemplu, ionul Cu(II) se poate demasca, din complexul său cu dietilditiocarbamat, cu ioni de Ag (I) sau de Hg(II) :



$$Cu(DDC)_2 + 2\,Ag^+ = 2AgDDC + Cu^{2+};\ Cu(DDC)_2 + Hg^{2+} = \\ = Hg\ (DDC)_2 + Cu^{2+}$$

Utilizînd extracte de $Cu(DDC)_2$ în $CHCl_3$ sau în CCl_4, se pot determina microcantități de argint sau de mercur indirect [5], pe baza acestor reacții (cuprul eliberat se poate determina complexonometric). În mod similar, utilizînd o soluție de $Zn(DDC)_2$

în CCl_4, se pot determina urme de Cu(II) (spectrofotometric), deoarece cuprul are o afinitate mai mare față de dietilditiocarbamat decît zincul [6]:



$$Zn(DDC)_2 + Cu^{2+} = Cu(DDC)_2 + Zn^{2+}$$

Un alt exemplu, cu numeroase aplicații practice, îl oferă demascarea Ni(II) cu ioni argint (I), din $Ni(CN)_4^{2-}$, în soluție amoniacală:



$$Ni(CN)_4^{2-} + 2\,Ag^+ = 2\,Ag(CN)_2^- + Ni^{2+}$$

ionul nichel eliberat putînd participa la reacțiile sale normale sau poate fi determinat cu EDTA. Această reacție se poate utiliza și la determinarea indirectă a argintului [7], a halogenurilor, cianurilor, tiocianaților [8] sau a arseniților și arseniaților [9] (anionii se precipită în prealabil sub forma sărurilor lor de argint).

Demascarea unor cationi (aluminiu, fier, staniu, titan, zirconiu etc) din complecșii lor fluorurați se poate face cu Be(II) sau cu acid boric, care formează complecșii anionici BeF_4^{2-} respectiv BF_4^- mai stabili.

Printre numeroasele posibilități de demascare prin deplasare se numără și utilizarea schimbătorilor de ioni, forma Ca(II), Co(II), Cu (II), Zn (II) etc, pentru demascarea lantanidelor și a unor ioni ai metalelor din grupele IV și V [10] ale sistemului periodic.

Mascarea și demascarea succesivă se poate aplica în multe determinări complexonometrice diferențiale, cu EDTA sau cu CDTA. De exemplu, în cazul unui amestec de ioni Zn(II), Cd(II), Ni(II), Pb(II), se determină toți cationii în bloc cu EDTA (adăugat în exces și determinarea excesului cu sulfat de magneziu), apoi se maschează Cd(II) cu DDC, care deplasează EDTA, iar acesta se determină cu $MgSO_4$ (în prezența albastrului de metiltimol). În continuare, se pot masca Pb (II) și Ni (II) cu acid tioglicolic, iar EDTA deplasat se poate determina din nou cu $MgSO_4$ și așa mai departe [11].

6.3. DEMASCAREA PRIN DISTRUGEREA LIGANDULUI

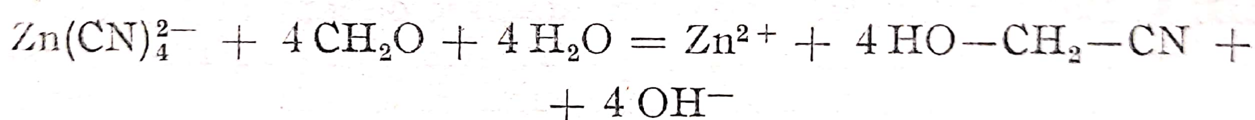
Această metodă de demascare constă în distrugerea chimică a ligandului, de regulă prin oxidare, sau distrugerea prin descompunere la încălzire. La distrugerea oxidativă se utilizează de regulă perhidrol, în prezența unui ion metalic catalizator. Așa,

de exemplu, demascarea Al (III), din complexul aluminotartric, se realizează prin oxidarea tartratului cu perhidrol în prezența Cu(II) catalizator. Distrugerea complecșilor tiocianici se face prin oxidarea tiocianatului cu perhidrol în prezența Fe(III) adăugat în cantități mici, iar demascarea ionilor metalici din complecșii lor cu EDTA se face prin distrugerea EDTA cu permanganat în mediu acid. Oxidarea EDTA, din complecșii săi cu Fe(III), Bi(III), Pb(II), Cd(II) și Ba (II), se poate face și cu perhidrol [12].

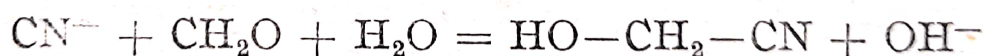
Demascarea Fe(III) din complexul său cu trietanolamina se poate face cu formol, cînd are loc reducerea parțială a Fe(III) la Fe(II), ultimul putîndu-se oxida cu perhidrol la Fe(III) [13].

6.4. DEMASCAREA PRIN TRANSFORMARE ÎN COMPUȘI NEREACTIVI

Prin acest procedeu, agentul de mascare se transformă, cu ajutorul altor substanțe, într-un compus inactiv față de ionii implicați în mascare. Spre exemplu, în cazul unei soluții ce conține ioni Zn(II), Cd(II), Ag(I), Hg(II), Co(II) și Ni(II), dintre care trebuie să se determine zincul și cadmiul, se procedează astfel: se maschează toți cationii cu cianură alcalină, rezultînd complecșii anionici corespunzători. După aceea, se adaugă aldehidă formică pentru demascarea zincului și a cadmiului conform reacțiilor [14]:



$$Zn(CN)_4^{2-} + 4\,CH_2O + 4\,H_2O = Zn^{2+} + 4\,HO-CH_2-CN + 4\,OH^-$$



$$CN^- + CH_2O + H_2O = HO-CH_2-CN + OH^-$$

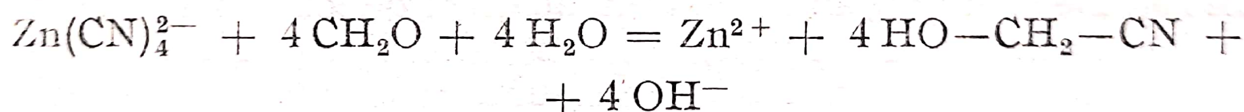
Ionul Zn(II) eliberat poate participa la toate reacțiile sale inclusiv cu ditizona. Complecșii anionici ai Ag(I), Hg(II), Co(II), Ni (II) fiind mai stabili, nu se pot demasca în acest fel. La demascările cu aldehidă formică trebuie avut în vedere că ionii hidroxil eliberați determină creșterea considerabilă a pH-ului soluției, astfel că un indicator ca negrul eriocrom T, poate funcționa ca indicator de pH. De aceea trebuie să se lucreze la o temperatură mai mică decît 15°C și cu o concentrație cît mai mică posibilă de cianură [15]. În acest fel, se mărește considerabil selectivitatea determinării Zn(II) și a Cd(II) cu EDTA. Pentru transformarea cianurii într-un compus nereactiv se poate utiliza și cloralhidratul sau acetona.

de exemplu, demascarea Al (III), din complexul aluminotartric, se realizează prin oxidarea tartratului cu perhidrol în prezența Cu(II) catalizator. Distrugerea complecșilor tiocianici se face prin oxidarea tiocianatului cu perhidrol în prezența Fe(III) adăugat în cantități mici, iar demascarea ionilor metalici din complecșii lor cu EDTA se face prin distrugerea EDTA cu permanganat în mediu acid. Oxidarea EDTA, din complecșii săi cu Fe(III), Bi(III), Pb(II), Cd(II) și Ba (II), se poate face și cu perhidrol [12].

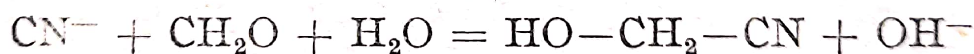
Demascarea Fe(III) din complexul său cu trietanolamina se poate face cu formol, cînd are loc reducerea parțială a Fe(III) la Fe(II), ultimul putîndu-se oxida cu perhidrol la Fe(III) [13].

6.4. DEMASCAREA PRIN TRANSFORMARE ÎN COMPUȘI NEREACTIVI

Prin acest procedeu, agentul de mascare se transformă, cu ajutorul altor substanțe, într-un compus inactiv față de ionii implicați în mascare. Spre exemplu, în cazul unei soluții ce conține ioni Zn(II), Cd(II), Ag(I), Hg(II), Co(II) și Ni(II), dintre care trebuie să se determine zincul și cadmiul, se procedează astfel: se maschează toți cationii cu cianură alcalină, rezultînd complecșii anionici corespunzători. După aceea, se adaugă aldehidă formică pentru demascarea zincului și a cadmiului conform reacțiilor [14]:



$$Zn(CN)_4^{2-} + 4\,CH_2O + 4\,H_2O = Zn^{2+} + 4\,HO{-}CH_2{-}CN + 4\,OH^-$$



$$CN^- + CH_2O + H_2O = HO{-}CH_2{-}CN + OH^-$$

Ionul Zn(II) eliberat poate participa la toate reacțiile sale inclusiv cu ditizona. Complecșii anionici ai Ag(I), Hg(II), Co(II), Ni (II) fiind mai stabili, nu se pot demasca în acest fel. La demascările cu aldehidă formică trebuie avut în vedere că ionii hidroxil eliberați determină creșterea considerabilă a pH-ului soluției, astfel că un indicator ca negrul eriocrom T, poate funcționa ca indicator de pH. De aceea trebuie să se lucreze la o temperatură mai mică decît 15°C și cu o concentrație cît mai mică posibilă de cianură [15]. În acest fel, se mărește considerabil selectivitatea determinării Zn(II) și a Cd(II) cu EDTA. Pentru transformarea cianurii într-un compus nereactiv se poate utiliza și cloralhidratul sau acetona.

6.5. ALTE PROCEDEE DE DEMASCARE

Demascarea reacţiilor se poate face, în unele cazuri, şi prin modificarea stării de oxidare, metodă utilizată mai ales pentru mascarea cationilor. De exemplu, dacă ionul Cu(I) este mascat cu tiosulfat (complexul este foarte stabil), se poate oxida Cu(I) la Cu(II), în mediu alcalin, iar cuprul bivalent poate reacţiona cu PAN spre deosebire de cuprul monovalent.

Există şi cazuri în care ligandul se poate îndepărta fizic din soluţie de exemplu prin volatilizare. Aşa de exemplu, amoniacul poate fi îndepărtat din complecşii unor cationi bi şi trivalenţi, prin încălzire. În mod similar se pot îndepărta şi halogenurile, dacă în prealabil soluţiile complecşilor lor sînt tratate cu acid sulfuric concentrat (se degajă astfel HF, HCl, Br_2 şi I_2).

Alţi anioni se pot îndepărta prin trecerea soluţiilor complecşilor lor (exemplu, complexul Mg-citrat) peste coloane cu schimbători de ioni, desigur în anumite condiţii de pH(în cazul Mg-citrat la pH $\approx$ 7). Prin această metodă se poate înlocui un ligand cu altul sau se pot descompune complecşii fără înlocuire. Acest procedeu se poate combina cu extracţia cu solvenţi, ceea ce permite rezolvarea multor probleme de demascare şi separare, determinînd în acelaşi timp creşterea selectivităţii.

BIBLIOGRAFIE

1. Studlar, J., Janousek, K., Coll. Czech. Chem. Comm., 24, 3799, 1959.
2. Jordan, D. E., Mann, D. E., Anal. Chim. Acta, 37, 42, 1967.
3. Cheng, K. L., Goydisch, B. L., Talanta, 13, 1161, 1966.
4. Gupta, A. K., Powell, J. E., Talanta, 11, 1339, 1964.
5. Komatsu, S., Kitazawa, C., Hatanaka, T., J. Chem. Soc. Japan, Pure Chem. Sect., 85, 598, 1964.
6. Ogiolda, K., Chem. Anal. (Warsaw), 10, 611, 1965.
7. Flaschka, H., Huditz, F., Z. Anal. Chem., 137, 104, 1952.
8. Flaschka, H., Mikrochemie ver. Mikrochim. Acta., 40, 21, 1953.
9. De Sousa, A., Chemist-Analyst, 54, 14, 1965.
10. Pajakoff, Sw., Ost. Chem. Zeit., 67, 42, 1966.
11. Pribil, R., *Komplexometrie I*, 2 nd ed, Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1963.
12. Cartwright, P.F.S., Analyst, 86, 688, 692, 1961.
13. Escarrilla, A. M., Talanta, 13, 363, 1966.
14. Flaschaka, H., Huditz, F., Z. Anal. Chem., 137, 172, 1952; 138, 332, 1953.
15. Berak, L., Hutnicka Listy, 12, 817, 1957.

CAPITOLUL 7

ROLUL BIOLOGIC AL IONILOR METALICI

Materia vie este, potrivit cercetărilor și cunoștințelor actuale, rezultatul modificărilor continue ale materiei anorganice, modificări suferite de-a lungul mai multor etape. Dealtfel, acest ciclu este parcurs, așa cum este și firesc, de la simplu la complex, de la elemente la compuși anorganici simpli și apoi la compuși organici.

Substanțele anorganice simple necesare vieții sînt apa, bioxidul de carbon, amoniacul, acidul fosforic (respectiv ionul fosfat) și ionul sulfat. Din acești compuși anorganici simpli iau naștere compușii organici, cu compoziție și structură complicată. Procesele care stau la baza formării compușilor organici, se petrec mai ales în regnul vegetal, deoarece organismul animal nu are facultatea de a sintetiza orice substanță organică din compuși anorganici simpli (așa-numitele substanțe primare).

Formarea substanțelor organice este determinată, pe de o parte, de însușirea atomului de carbon de a forma catene de carbon, în care sînt înlănțuiți foarte mulți atomi de carbon (practic în număr nelimitat), iar pe de altă parte însușirii atomului de carbon de a forma legături covalente și cu alte elemente, printre care cu hidrogenul, oxigenul, azotul, fosforul etc.

Se știe că viața este apanajul materiei superior organizate, care este de fapt constituită din compuși organici ajunși în stadiul biologic, în care dobîndesc o compoziție, structură și conformație extrem de complicate. Pe de altă parte, se știe că organismul animal nu are capacitatea de a sintetiza din compuși anorganici simpli, proteine, substanțe indispensabile vieții, și nici glucide, care constituie sursa energetică principală în organism.

Deși elementele principale care stau la baza edificiului materiei organice vii, sînt elemente cu caracter nemetalic (carbonul, hidrogenul, oxigenul, azotul, fosforul și sulful), un rol important în organizarea, mișcarea și funcționarea materiei vii, și legat de aceste aspecte, în desfășurarea reacțiilor biochimice, extrem de complicate și fine care au loc în organism, îl au și ionii metalici. Dintre aceștia se pot menționa unii ioni ai metalelor ușoare (so-

diu, potasiu, magneziu și calciu). Fără a minimaliza rolul biologic al acestor ioni, trebuie subliniat că nu se pot concepe reacțiile biochimice în absența unor ioni ai metalelor mai grele și grele, respectiv ai metalelor tranziționale, situate în perioadele mari ale sistemului periodic. Unele dintre însușirile fundamentale ale acestor ioni, printre care dimensiunile lor mici (volum și rază), structura electronică complicată (datorită numărului mare de electroni), masa mare, sarcina mare și variabilă, potențialele redox etc., explică indispensabilitatea lor pentru procesele biologice, respectiv importanța covîrșitoare a acestor ioni în procesele fundamentale ce stau la baza vieții[1]. Acești ioni se găsesc în organismul animal în cantități foarte mici, de aceea se și numesc microelemente esențiale. Dar aceste elemente nu se găsesc în organism în stare liberă, ci sub forma unor complecși chelați, organizați în cadrul unor edificii adesea gigantice, numite curent macromolecule (sau sisteme macrociclice), cum sînt porfirinele, proteinele, glucidele, lipidele etc.

În tabelul 7. 1, sînt prezentate metalele ai căror ioni sînt implicați în procese biochimice ce au loc în organism.

TABELUL 7.1

Metale implicate mai frecvent în procese biochimice

Metalul	Acțiuni în care este implicat	Observații
Litiul-Li $Z = 3$	Depresiv al nervilor motori, slăbește contracția musculară; nu este antagonist al sodiului și potasiului; se administrează numai oral, sub formă injectabilă produce intoxicații grave, letale. Scade activitatea psihomotorie în schizofrenie, epilepsie, tulburări de comportament.	Gotalitin, în boli reumatice; Li_2CO_3 în boli neuropsihice.
Sodiul-Na $Z = 11$	Component ionic principal în mediul extracelular, influențează distribuția apei în organism. Rol esențial în procesele electrice de membrană (influxul de sodiu produce depolarizarea-contracția, efluxul produce repolarizarea-relaxarea). Influențează homeostazia, intervenind în echilibrul hidromineral și acido-bazic, împreună cu ionul Cl^-; mărește biodisponibilitatea sulfamidelor, antibioticelor și barbituricelor, prin creșterea solubilității lor.	$NaCl + NaHCO_3$-perfuzie, utilizat pentru restabilirea echilibrului hidromineral și acido-bazic.

Metalul	Acțiuni în care este implicat	Observații
Potasiul-K Z = 19	Component ionic principal al mediului intracelular. Contribuie la menținerea echilibrului hidromineral și acido-bazic. Participă la fenomenele electrice de membrană, la formarea glicogenului din glucoză. Anabolismul tradus prin fixarea K^+, iar catabolismul prin eliminarea ionului de potasiu. Este antagonist al sodiului și calciului.	KCl soluție perfuzabilă pentru reechilibrarea hidrominerală și acidobazică; pentru creșterea biodisponibilității medicamentelor, formînd compuși mai solubili; K diuretic osmotic
Magneziul-Mg; Z = 12	Component al clorofilei, celulelor roșii, mușchilor; laxativ, colagog, antiacid, antiseptic; depresiv al SNC ,cu efect anestezic și scăderea excitabilității inimii. Antagonist al calciului.	$MgSO_4$ laxativ și colagog. MgO, $Mg(OH)_2$ antiacid; $MgSO_4$, inj. depresiv, encefalopatia hipertensivă și tahicardia paroxistică.
Calciul-Ca Z = 20	Component esențial al protoplasmei și membranei celulare, al oaselor și dinților. Influențează metabolismul fosforului, permeabilitatea capilară, coagularea sîngelui (formînd trombina). Rol important în diviziunea celulară și în transmiterea impulsurilor nervoase; intervine în transferul sodiului și potasiului prin membrană. Influențează sist. nervos vegetativ cu predominența simpatică. Este implicat în activitatea catalitică a unor enzime sub formă de citrat sau complecși proteici. Antagonist al Na care favorizează predominența parasimpatică.	Ca-gluconat, lactat, pantotenat, glicerofosfat, fosfat pentru aport de calciu în sarcină, lehuzie, lactație, rahitism. $CaCl_2$ + gluconat i.v. pentru reducerea spasmelor tetanice și protectori alergici. $CaCO_3 + Ca(OH)_2$ neutralizant și pansament gastric.
Stronțiul și bariul	Foarte toxici, substituie Ca din oase	$BaSO_4$-radioopac.
Aluminiul-Al; Z = 13	Microelement esențial (alături de B, Si, Ga, Mn, Mo etc). Activează succindehidrogenaza.	$AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, $AlCl_3$, $Al(CH_3COO)_3$ astringenți și antiseptici. $AlPO_4$, $Al(CO_3)OH$ neutralizanți gastrici.
Galiul-Ga Z = 31	Microelement esențial concentrat în oase.	Utilizat ca preparat radioactiv în tratamentul unor cancere osoase.

Metalul	Acțiuni în care este implicat	Observații
Staniul-Sn Z = 50	Microelement; intră în compoziția unor enzime.	
Vanadiul-V Z = 23	Microelement esențial. Inhibă biosinteza colesterolului; efect favorabil împotriva căderii dinților. Proprietăți antisifilitice. A fost încercat în tratamentul tuberculozei și diabetului.	Toți compușii sînt toxici.
Seleniul-Se Z = 34	Ionul Se^{2+} este esențial pentru creșterea unor plante (ex. Stanleya piinata). Lipsa seleniului și a vitaminei E, determină unele boli musculare, necroze hepatice și pancreatice, atrofia corticosuprarenală.	SeS în tratamentul dermatitei seboreice. Selenometionina (^{35}Se-) în diagnosticarea bolilor pancreasului. Toxic pt. animale.
Telurul-Te Z = 52	Acțiune spirocidă și citostatică	Preparate pentru suprimarea transpirației nocturne la bolnavii de tuberculoză. Toxic pentru animale.
Cromul-Cr Z = 24	Se pare că are rol important în metabolismul glucidic și în diabet.	Acidul cromic (0,1 —5%) în tratamentul unor tumori maligne, lupus eritematos, membrane difterice, leucoree. Cr(VI) f. toxic.
Molibdenul-Mo; Z = 42	Microelement esențial pentru organismele vii. Component al xantinoxidazei și aldehidoxidazei. Enzimele ce conțin Mo(V) controlează reducerea nitriților și fixarea azotului la plante.	
Manganul-Mn Z = 25	Microelement esențial. Activează cozimaza, carboxilaza, colinesteraza, fosfataza, leucilpeptidaza. Este implicat în reproducerea și creșterea animalelor, în metabolismul calciului și al fosforului. Carența Mn(II) duce la nefertilitatea animalelor și la malformații osoase.	$MnSO_4$, tonic, roburant, în vin tonic. $KMnO_4$ antiseptic. În concentrații mici, Mn(II) antagonizează spasmul determinat de Ba(II), prin mecanism muscular direct. $MnCl_2$ inj. în schizofrenie, furunculoză, acnee.

Metalul	Acțiuni în care este implicat	Observații
Fierul-Fe Z = 26	Microelement esențial cu rol mai bine studiat. Component al hemoglobinei, mioglobinei, organelor eritropoietice, al splinei. Implicat în metabolismul celular. Rol în transportul oxigenului. Component al citocromului *c* și al citocromoxidazei. Induce sinteza hemoglobinei (alături de Cu(II), Co(II), Ni(II), Mn(II), Ti(II), Zn(II) etc. Carența fierului duce la anemie. Se absoarbe în duoden și intestin ca hidroxifosfat de Fe(III), care cu apoferitina, dă feritina ce se depozitează în ficat, splină, măduvă, rinichi, limfă.	Glubifer (fier glutamat) în anemii hipocrome. $FeCl_3$ uz. ext., ca astringent hemostatic. Fe redus, $FeSO_4$, citrat de fier și amoniu, $FeCO_3$ în tratamentul anemiei. În același scop se mai utilizează și unii complecși ai Fe(II) și Fe(III). În doze mari, efecte toxice. Ferrum Hausmann i.m. (fier polimaltozat), în anemii microcitare hipocrome. Ferrum Hausmann i.v. (fier zaharat) în anemii microcitare hipocrome.
Cobaltul-Co Z = 27	Microelement esențial, component al vitaminei B_{12}. Stimulează eritropoieza (în doze mari o inhibă). Stimulează absorbția fierului, în inflamații intestinale.	Succedaneu al Fe(II) în tratamentul anemiilor. $CoCl_2$ component al neoanemovitului (care mai conține gluconat de Fe(II) și $CuCl_2$).
Cuprul-Cu Z = 29	Component al unor pigmenți transportori de oxigen, al unor enzime redox, al ceruloplasminei, al hemocianinei și turcainei, al tirozinazei. Cu(II) participă la oxidarea glutationului, cisteinei, ac. ascorbic, influențează eritropoieza (prin mobilizarea Fe din depozite), sinteza hemoglobinei, activează glicoliza. Este distribuit în ser, creier, ficat, rinichi, oase, mușchii striați.	$CuSO_4$, $CuCl_2$ (în sirop tonic, Neoanemovit), în anemie, astenie, convalescență. $CuSO_4$ (1%) emetic, în intoxicații cu fosfor. Compușii Cu(II) astringenți și decongestionanți.

Metalul	Acţiuni în care este implicat	Observaţii
Zincul-Zn $Z = 30$	Microelement esenţial, se găseşte mai ales în pancreas. Component al unor enzime ca anhidraza carbonică, carboxipeptidaza, alcooldehidrogenaza, ac. glutamicdehidrogenaza, lacticdehidrogenaza musculară, alcalinfosfataza renală. Activează enolazele şi lecitinazele.	ZnO, $ZnCO_3$, $ZnCl_2$, $ZnSO_4$, soluţii sau pulberi sînt antiseptice, astringente keratolitice, utilizate în unele afecţiuni ale pielii.
Mercurul-Hg ; Z=80	Nu este microelement esenţial; este toxic. Hg(II) influenţează sistemele enzimatice din tubii renali, implicate în resorbţia sodiului. Acţiune antifungică, antiseptică, astringentă, germicidă.	Mercasept, Merbromin, Mertiolat, Mercresol, Nitromersal, antiseptice. Salyrgan, Mercusal, Mercurophylin, Mercaptomerin Poliuren, Eridron, diuretice. Hg_2Cl_2 purgativ, $Hg(CN)_2$ antisifilitic. $HgCl_2$, $Hg(CN)_2$, HgO, $HgNH_2Cl$ în unguente.

Notă. Alte metale ca, Tl(I), Tl(III), Pb(II), As(III), Sb(III), Ag(I), Au(I), Au(III) metalele platinice şi altele au efecte toxice asupra organismului. Unele ca Ag, Au, Pb etc, intră în compoziţia unor medicamente.

Ionii metalici formează cu sistemele biologice naturale (proteine, coloranţi, acizi nucleici, glucide etc) complecşi chelaţi, implicaţi în sinteza şi degradarea moleculelor biologice fundamentale, în blocarea sau substituirea unor grupări funcţionale, în transportul oxigenului la ţesuturi, reacţii redox celulare, transferul de energie etc. [2, 3].

Sînt cunoscuţi o serie de chelaţi naturali cu rol de transportori de oxigen, printre care hemoglobina (care conţine fier bivalent, legat într-un sistem macrociclic, prin nuclee pirolice) este cea mai importantă , deoarece se găseşte în sîngele tuturor animalelor superioare (vezi mai departe enzime). Dealtfel, ionul Fe(II) este component al citocromilor, care sînt sisteme redox biologice. Există de asemenea unele bacterii care conţin fier bivalent, sub forma unui chelat feroproteinic numit fericrom,

din care fierul poate fi transferat organismelor superioare prin intermediul transferinei, care formează cu fierul un chelat mai stabil decît fericromul. Pe de altă parte, transferina, putînd extrage fierul din unele bacterii, are o acțiune antibiotică. În sfîrșit, unii chelați ai fierului, printre care hematoporfirina (respectiv chelatul Fe-protoporfirină), au acțiune stimulatoare asupra sistemului nervos central.

Trebuie remarcată și existența transportorilor de oxigen care conțin alte metale decît fier. Astfel, hemovanadina, care conține V(III), este un pigment verde care se găsește în unele specii de ascidieni [2]. Se admite că hemovanadina, cu structură și acțiune similară hemoglobinei [4], este implicată și în sinteza tunicii ascidienilor, printre care Ascidiella aspersa, Phalluria mamillata, Ciona intestinalis etc. Acești ascidieni trăiesc în zonele stîncoase ale litorarului Mării Negre și concentrează importante cantități de vanadiu [5]. Ionul Cu(II) este de asemenea component al unor chelați macrociclici naturali cu rol de transportori de oxigen, cum sînt hemocianinele, care se găsesc în sîngele unor moluște, insecte, viermi etc.

Pe de altă parte, unii dintre ionii metalelor tranziționale sînt componenți ai metaloenzimelor, catalizatori biologici, a căror dereglare sau inactivare produc grave tulburări ale proceselor biochimice din organismele vii.

Unul dintre ionii conținuți în metaloenzime este Mo(VI) și anume în flavoenzime, cum sînt xantinoxidaza, aldehidoxidaza și nitroreductaza, toate avînd rol de catalizator al reacțiilor redox la care participă FAD [1]. Așa, de exemplu, în xantinoxidază, Mo(VI) este legat de gruparea flavonică prin atomi de azot și de oxigen. În reacțiile redox, la care participă xantinoxidaza, Mo(VI) se reduce la Mo(V). Pe de altă parte Mo(V) intră în compoziția nitratreductazelor, care catalizează reducerea ionului NO_3^- anorganic la NO_2^-. La aceste reacții participă FAD care, fixînd doi atomi de hidrogen, trece în $FADH_2$, iar în urma reducerii nitratului la nitrit, $FADH_2$ se reoxidează la FAD, formîndu-se o moleculă de apă.

Un alt ion conținut în metaloenzime este Mn (II), care se găsește în cozimază, carboxilază, fosfatază, aminopeptidaze etc., implicate în metabolismul calciului și al fosforului [2], precum și în procesele de reproducere.

Ionul Fe(II) este și el component al unor enzime, printre care succindehidrogenaza, citocromoxidaza, peroxidazele și catalazele. În sfîrșit, ionul Cu(II) este component al următoarelor enzime : aminooxidaze, mono și polifenoloxidaze, MAO etc.

Desigur că lista chelaților naturali implicați în procese biologice, care atestă și explică participarea ionilor metalici ai metalelor tranziționale la aceste procese, este mult mai mare. Dealtfel, capitolele următoare sînt afectate tocmai unor astfel de complecși chelați naturali.

BIBLIOGRAFIE

1. Hughes, M. N., *The Inorganic Chemistry of Biological Processes*, John Wiley and Sons Ltd., London, 1975.
2. Huhey, James E., *Inorganic Chemistry-principles of structure and reactivity*, Harper and Row Publishers, New York, 1971.
3. Ralea, R., Popa-Rang, A., *Chimia și structura combinațiilor complexe*, Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1965.
4. Senozan, N. M., J. Chem. Ed., 51, 503, 1974.
5. Goodman, L. S., Gilman, A., *Bazele farmacologice ale terapeuticii*, Ed. medicală, București, 1960.

CAPITOLUL 8

COMPLECȘII IONILOR METALICI CU NUCLEOTIDE

Nucleotidele, pe lîngă participarea lor în edificarea moleculelor de acizi nucleici, îndeplinesc în celulă o serie de funcții importante în calitate de donori de grupări fosfat sau ca efectori ai enzimelor alosterice. Deși, în multe cazuri, legarea nucleotidelor de molecula fosfotransferazelor este independentă de faptul că nucleotidele sînt în formă liberă sau în complex cu ionii metalici (de regulă bivalenți), reacția de fosforilare propriu-zisă reclamă prezența obligatorie a cationului bivalent: Mg(II), Ca(II) sau mai rar Mn(II). Cu alte cuvinte, veritabilul substrat în asemenea reacții este complexul ionului metalic cu nucleotidele. Avînd în vedere faptul că toate căile metabolice majore reclamă asemenea reacții de transfosforilare este de la sine înțeles că explicarea structurii și proprietăților complexului metal-nucleotid prezintă un interes deosebit. Metodele de investigație au parcurs toată gama procedeelor fizico-chimice moderne, de la difracția cu raze X a structurilor cristaline, la studiul nucleotidelor în soluție, prin rezonanță magnetică nucleară (RMN), rezonanță electronică de spin (RES), dicroism circular, spectrofotometrie în U.V., vizibil și infraroșu, fără a neglija însă metodele „clasice" conductometrice, dielcometrice, de competiție pe rășini schimbătoare de ioni etc. Dintre metodele indirecte de investigare un interes particular, prin aplicațiile biomedicale, îl constituie analogii de nucleotide, cu modificări în structura bazei azotate, a pentozei sau a lanțului polifosfatic, care afectează direct sau indirect interacțiunea cu ionul metalic.

În general, se admite că baza azotată și pentoza influențează în mai mică măsură stabilitatea complexului nucleotidelor cu ionii metalici, rolul major fiind jucat de lanțul polifosfatic. Acest lucru este în mare parte adevărat, dacă avem în vedere faptul că între constanta de stabilitate a complexului ATP^{4-} și AMP^{2-} cu Mg(II) există diferențe de două ordine de mărime, în timp ce constanta de stabilitate a tuturor nucleozidtrifosfaților (NTP) cu ionul de magneziu sînt sensibil apropiate (tabel 8.1). Desigur, constanta de stabilitate (K_s) nu reflectă integral semnificația legăturii nucleotidei cu ionul metalic. Pe de altă parte, nucleotidele, avînd grupări disociabile, este de la sine înțeles

că, sub pH 8 (peste acest pH, nucleotidele sînt complet deprotonate), coexistă în soluție specii cu diverse grade de afinitate pentru ionii metalici (tabel 8.2).

TABELUL 8.1.

Constanta de stabilitate pentru ioni metalici bivalenți cu diferite nucleotide (LogK_s, K_s exprimat ca M^{-1})

Nucleotid	Mg(II)	Ca(II)	Mn(II)	Co(II)	Fe(III)
ATP	4,04	3,77	4,75	4,62	5,40
GTP	4,02	3,58	4,73	4,63	5,60
CTP	4,01	3,81	4,78	4,48	5,80
UTP	4,02	3,71	4,78	4,55	5,50
ADP	3,15	2,82	3,94	3,68	4,30
AMP	1,95	1,76	2,31	2,58	—

După Tu și Heller (1)

TABELUL 8.2

Efectul pH-ului, a concentrațiilor de Mg(II) ATP și ADP asupra formării complecșilor metal-nucleotide.

Mg(mM)	ATP Total (mM)	pH	Procentul de nucleotide în formele menționate →			
			$MgATP^{2-}$	ATP^{4-}	$MgHATP^{-}$	$HATP^{3-}$
1,0	1,0	6	63,3	3,0	5,9	27,7
		7	83,9	7,9	0,8	7,4
		8	88,1	10,8	0,1	1,0
2,0	1,0	6	81,4	1,1	7,6	9,9
		7	96,5	1,4	0,9	1,3
		8	98,4	1,4	0,1	0,1

După Morrison și Heyde (2)

Valorile au fost calculate în baza pK a ATP de 6,97 și 3,93, și a logaritmului constantelor de stabilitate a $MgATP^{2-}$ de 4,84 și, respectiv, $MgHATP^{-}$ de 2,84.

O examinare mai atentă a interacțiunilor dintre ionii metalici și nucleotide sau nucleozide (în special cu ionii metalelor grele) arată diferențe de interacțiune dictate de natura bazei azotate. Astfel, în legarea Cu(II) de către un nucleozid monofosfat

că, sub pH 8 (peste acest pH, nucleotidele sînt complet deprotonate), coexistă în soluție specii cu diverse grade de afinitate pentru ionii metalici (tabel 8.2).

TABELUL 8.1.

Constanta de stabilitate pentru ioni metalici bivalenți cu diferite nucleotide ($LogK_s$, K_s exprimat ca M^{-1})

Nucleotid	Mg(II)	Ca(II)	Mn(II)	Co(II)	Fe(III)
ATP	4,04	3,77	4,75	4,62	5,40
GTP	4,02	3,58	4,73	4,63	5,60
CTP	4,01	3,81	4,78	4,48	5,80
UTP	4,02	3,71	4,78	4,55	5,50
ADP	3,15	2,82	3,94	3,68	4,30
AMP	1,95	1,76	2,31	2,58	—

După Tu și Heller (1)

TABELUL 8.2

Efectul pH-ului, a concentrațiilor de Mg(II) ATP și ADP asupra formării complecșilor metal-nucleotide.

Mg(mM)	ATP Total (mM)	pH	Procentul de nucleotide în formele menționate → $MgATP^{2-}$	ATP^{4-}	$MgHATP^{-}$	$HATP^{3-}$
1,0	1,0	6	63,3	3,0	5,9	27,7
		7	83,9	7,9	0,8	7,4
		8	88,1	10,8	0,1	1,0
2,0	1,0	6	81,4	1,1	7,6	9,9
		7	96,5	1,4	0,9	1,3
		8	98,4	1,4	0,1	0,1

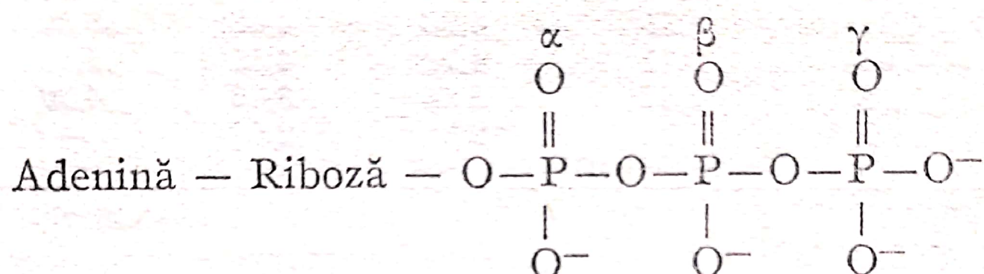
După Morrison și Heyde (2)

Valorile au fost calculate în baza pK a ATP de 6,97 și 3,93, și a logaritmului constantelor de stabilitate a $MgATP^{2-}$ de 4,84 și, respectiv, $MgHATP^{-}$ de 2,84.

O examinare mai atentă a interacțiunilor dintre ionii metalici și nucleotide sau nucleozide (în special cu ionii metalelor grele) arată diferențe de interacțiune dictate de natura bazei azotate. Astfel, în legarea Cu(II) de către un nucleozid monofosfat

există următoarea ordine de preferință : IMP > GMP > CMP > > AMP. La fel Ag(I) se leagă preferențial de nucleozidele guaninei, fie în stare liberă, fie ca și componente ale acizilor nucleici. Deși semnificația biologică a complecșilor nucleotidelor cu ionii metalelor grele pare mai restrînsă, interesul acordat acestor complecși este justificat de acțiunea lor potențial citostatică, utilitatea ca markeri de spin, cînd ionul metalic este paramagnetic, sau ca agenți de marcare în microscopia electronică, respectiv difracția cu raze X.

Firește cel mai important complex este acela al ATP cu Mg(II), cationul cel mai frecvent întîlnit în reacțiile ce reclamă participarea nucleotidelor :



Se reține faptul că cei trei atomi de fosfor, pornind de la riboză, sînt notați cu alfa, beta și gama. Cu 20 de ani în urmă, Szent-Györgyi [3] a sugerat existența unei structuri torsionate a moleculei ATP (Fig. 8.I), în care fosfatul beta și gama se leagă de Mg(II), care, la rîndul său, stabilește legături cu N_7 și funcțiunea aminică de la C_6 a nucleului purinic. În felul acesta, capătul fosfatic al moleculei este situat relativ aproape de purină. Această structură asigură transferul energiei lanțului fosfatic spre nucleul adeninei prin intermediul ionului de magneziu transfer energetic necesar în multe reacții enzimatice.

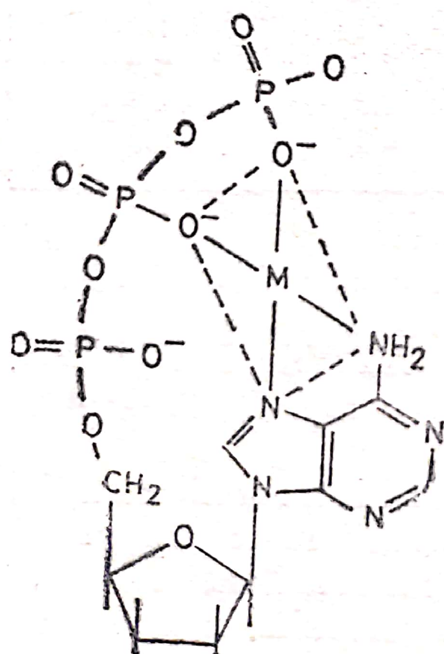


Fig. 8.I. Modelul spațial al moleculei de Mg—ATP după Szent-György.

Conformația în soluție a ciclului chelatic cuprinzînd 6 atomi este necunoscută. Din cele două conformații teoretic posibile (scaun și baie) ultima se pare că este mai stabilă permițînd separarea spațială a celor doi atomi de oxigen cu sarcină negativă, minimalizînd în felul acesta repulsiile electrostatice și crescînd stabilitatea moleculei (Fig. 8.II.).

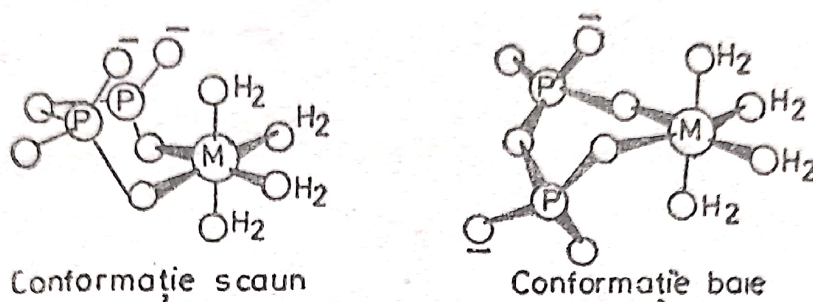


Fig. 8.II. Conformația complexului chelatic al restului pirofosfat cu ion metalic bivalent, Mn(II), Mg(II).

Structura propusă de Szent-Györgyi pe baze intuitive este încă și astăzi subiect de discuție în baza faptelor experimentale controversate din care vom menționa cîteva. Prin spectrofotometrie în U.V. și studiul fenomenului de dispersie optică rotatorie, s-a arătat că atît Mg(II) cît și Ca(II) afectează proprietățile nucleului adeninei din ATP, ceea ce ar sugera ca reale interacțiunile cu participarea pozițiilor amintite din nucleul purinic [4]. Pe de altă parte studii de $^{1}H-RMN$ și $^{31}P-RMN$, mult mai directe decît precedentele indică legarea exclusivă a Mg(II) și a Ca(II) la grupările fosfat β și γ, fără participarea nucleului purinic. În cazul Mn(II), Ni(II) și Zn(II) aceste interacțiuni în care metalul se constituie ca o punte între capătul fosfat și purinic ale moleculei, sînt unanim recunoscute [12]. Nu este cu certitudine exclus faptul ca și în cazul Mg(II) aceste interacțiuni să aibă loc prin intermediul unei molecule de apă (Fig. 8.III.).

Glassmann și colab. [12] prin RMN arată că structura complexului ATP cu Mn(II) este similară complecșilor nucleotidului cu Ni(II) și Co(II). La concentrații joase de ATP se formează complecși 1 : 1 $MnATP^{2-}$, în timp ce la concentrații mai mari de 0,35 M se formează complecși 1 : 2. Un comportament particular este oferit de Cu(II) capabil de legare atît la capătul fosfatic cît și la cel purinic. Einchorn și colab. [6] au propus o structură în care Cu(II) se leagă de N_7 a unei molecule de 5′AMP și simultan de gruparea fosfat a altei molecule de 5′AMP. Într-un asemenea aranjament două molecule de 5′AMP și doi ioni de Cu(II) formează o structură „în stivă" stabilizată,

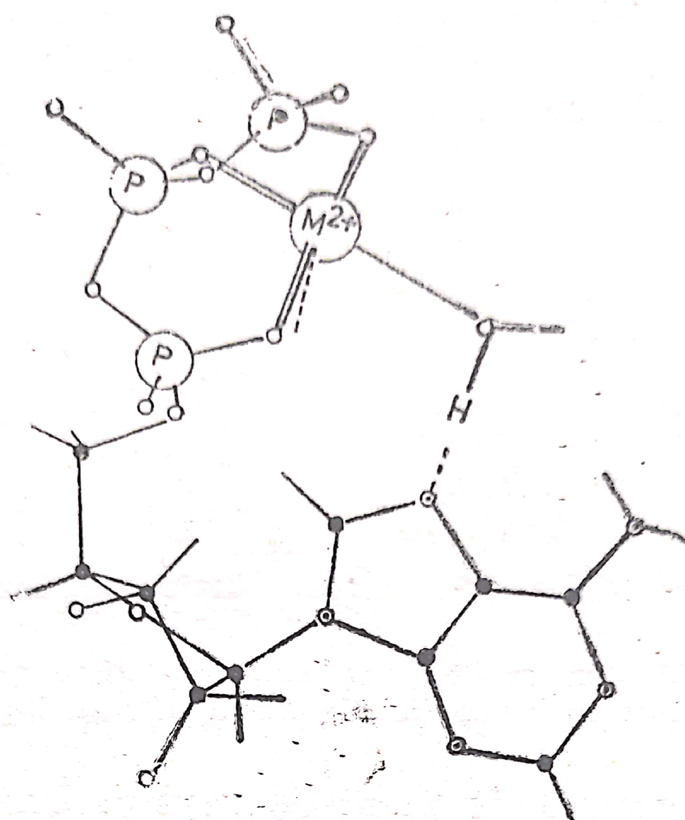


Fig. 8.III. Structura complexului chelat al ATP cu ioni metalici paramagnetici, Mn(II), Co(II), Ni(II), după Glassman și colab. (5).

avînd în vedere că tăria legăturii la purină și fosfat este aproximativ egală. În cazul 2′AMP ionul metalic se leagă simultan la aceeași moleculă prin capătul fosfatic și cel purinic. Prezența oxigenului la C_6 de la nucleul inozinei și guaninei favorizează formarea complecșilor la nucleu cu participarea atomului de oxigen și a N_7. Deși forma cetonică predomină în cazul nucleotidelor guaninei și inozinei, atunci cînd se formează complecși cu Ag(I) sau Cu(II) echilibrul cetoenolic este deplasat spre forma enolică fapt demonstrat de dispariția benzii de vibrație caracteristică funcțiunii CO [1].

În cazul nucleotidelor pirimidinice cu puține excepții interacțiunile ionilor metalici se rezumă la capătul fosfatic al moleculei. Dacă ionul Cu(II) se poate lega la nucleul citozinei prin intermediul N_3 sau a grupării aminice de la C_4 în CMP, aceste interacțiuni sînt atît de slabe față de interacțiunile cu gruparea fosfatică încît nu mai pot fi detectate prin metode conductometrice sau spectrofotometrice. În cazul uridinei sau UMP, ionii metalici, practic, nu interacționează cu componenta heterociclică. O excepție o constituie timina care reacționează cu complexul tetraoxidului de osmiu cu piridina, ceea ce constituie o metodă de perspectivă în vizualizarea acizilor nucleici în microscopia electronică [7].

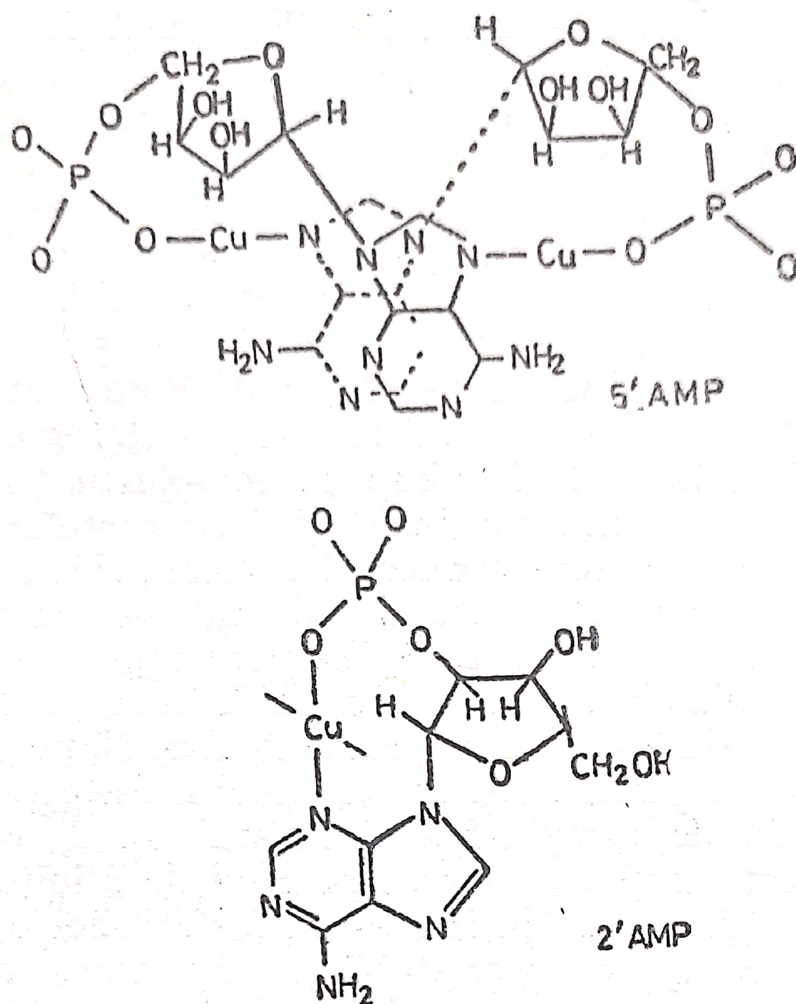


Fig. 8. IV. Structura complexului Cu(II) cu 5'AMP și respectiv Cu(II) cu 2'AMP.

Derivații metalici stabili ai nucleotidelor au fost obținuți relativ recent, dovedindu-se de o utilitate deosebită în enzimologie în descifrarea unor mecanisme de reacție [8]. Există două tipuri de asemenea compuși : a) complecși inerți de coordinare conținînd Co(III) sau Cr(III) legați de capătul fosfatic al moleculei de nucleotid ; b) combinații conținînd mercur legat covalent la nucleul purinic.

Pornind de la stabilitatea remarcabilă a complecșilor Co(III) și Cr(III) DePamphilis și Cleland [9] au preparat un număr mare de complecși inerți ai nucleotidelor de tipul CrATP, care au fost apoi diversificați prin complecși bidentați ai ATP sau analogilor acestora, de forma $Cr(NH_3)_4ATP$, $Cr(NH_3)_4$—8 BrATP, $Cr(NH_3)_4$—AMPPMP (AMPPMP este un analog al ATP în care puntea de oxigen între fosfatul beta și gama este înlocuită cu funcțiunea NH), sau complecși monodentați $Cr(NH_3)(H_2O)ATP$, $Cr(NH_3)_5ATP$. Fiind stabili și rezistenți la hidroliză la valori ale pH 7 sau sub 7, acești complecși pot „simula" complexul $MgATP^{2-}$, cu singura deosebire că, în timp ce ultimul se

caracterizează prin configurații mobile, complexul CrATP este blocat într-o singură configurație. Într-adevăr, studii efectuate pe o serie de fosfotransferaze, asupra cărora vom reveni, au arătat o specificitate de reacție mult apropiată între complexul CrATP și MgATP. Deoarece prin cromatografia pe coloană s-au separat diferiții izomeri de poziție ai complecșilor Cr(III), Co(III) cu ATP, s-a ajuns la concluzia că nu toți acești izomeri se comportă identic față de fosfotransferaze. Astfel, preparate parțial purificate de complecși CrATP și $CrNH_3ATP$ au arătat că numai complexul bidentat [10, 11] CrATP este inhibitor pentru hexochinază și glicerolkinază, în timp ce complexul tridentat este substrat pentru creatinfosfatkinază și fosfofructokinază. Separarea completă a unor asemenea complecși este evident interesantă în vederea stabilirii adevăratului substrat sau efector pentru o enzimă dată. Datorită proprietăților paramagnetice ale Cr(III), complecșii acestuia cu nucleotide sînt utili în studii RMN, RES, cu valoare potențială în cristalografia cu raze X pentru precizarea locului de legare a ATP la centrul activ al fosfotransferazelor. Un alt domeniu de perspectivă al acestui tip de complecși ai nucleotidelor este utilitatea lor ca reactivi de afinitate. Dankin și Buc [12] au găsit că prin incubarea fosforilazei b cu CoATP se formează un complex ternar stabil inactiv ca urmare a blocării centrului activ al fosforilazei. Această reacție este specifică, efectul inhibitor al CoATP putînd fi reversat cu ajutorul reactivilor ce regenerează grupările SH libere ale enzimei.

Complecșii conținînd mercur legat covalent la nucleul purinic deși nu se încadrează propriu-zis în categoria de complecși metalici, merită să fie menționați în acest context din mai multe motive. Sînt ușor de preparat printr-o simplă reacție de acetoximercurare [9], au numeroase aplicații în enzimologie și chimia acizilor nucleici, pot fi folosiți în cristalografie datorită prezenței atomului „greu", în sfîrșit sînt utili ca markeri de afinitate pentru enzimele care conțin grupe SH libere, în centrul

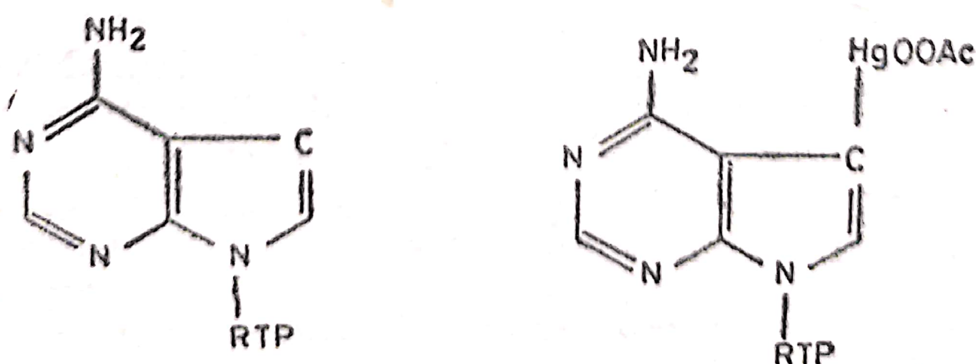


Fig. 8.V. 7-deazaadenozin-5'-trifosfatul (tubercidin-5'-trifosfatul) și produsul său de acetoximercurare. RTP semnifică restul de ribozil-trifosfat.

activ. Un exemplu ilustrativ este oferit de analogul ATP în care nucleul adeninei este înlocuit cu cel al 7-deaza adeninei, Fig. 8.V.. Poziția 7 de la 7-deaza ATP poate fi substituită cu formarea 7-mercuri-acetoxi-ATP, fără a influența legăturile de hidrogen ale analogului, permițînd un cuplaj al bazelor în acizii nucleici și respectiv fără a schimba conformația nucleotidelor care în stare naturală este anti [8].

BIBLIOGRAFIE

1. Tu, A.T. și Heller, M.J., în *Metal Ions in Biological Systems*, (Ed. H. Sigel) vol. I, Marcel Dekker, Inc., New York, p. 1—49, 1974.
2. Morrison, J. F., și Heide, E., Ann. Rev. Biochem. 41, 29—54, 1972.
3. Szent-Györgyi, A. *Bioenergetics*, Acad. Press, New York, 1957.
4. Epp, A., Ramasarma, T., și Wetter, L. R., J. Am. Chem. Soc. 80, 724, 1959.
5. Glassman, T. A., Cooper, C., Harrsison, L. W. și Swift, T. J., Biochemistry 10, 843, 1971.
6. Einchorn, G. L., Berger, N. A., Butzow, J. J., Clark, P., Rifkind, J. M., Shin, Y.A. și Tarier, F., în Advances in Chemistry Series, No. 100, Bioinorganic Chemistry, Washington, D. C., 135—154, 1971.
7. Strothkamp, K. G., și Lippard, S. J., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 73, 2536—2540, 1976.
8. Yount, R. G., Advances in Enzimology and Related Areas of Molecular Biology 43,1—56, 1975.
9. De Pamphilis, M. L., și Cleland, W. W., Biochemistry, 12, 3714, 1973.
10. Danenberg, K. D., și Cleland, W. W., Biochemistry, 14, 28, 1975.
11. Brummond, D. O., și Cleland, W. W., Fed. Proc. 33, Abst. 1565, 1974.
12. Dankin, A., și Buc, H., J. Biol. Chem., 248, 3241, 1973.

CAPITOLUL 9

ROLUL METALELOR ÎN CATALIZA ENZIMATICĂ

9.1. GENERALITĂȚI

Din cele peste 1 000 de enzime cunoscute astăzi mai mult de un sfert din ele conțin ioni metalici în structura lor, sau reclamă participarea ionilor metalici în cataliză. Dacă vorbim despre metalo-enzime (prima categorie) și enzime activate de metale (a doua categorie) trebuie să admitem că diferențele sînt mai mult de ordin cantitativ, în metal-enzime legătura dintre componenta proteică și ionul metalic fiind mai puternică. Totuși în multe cazuri diferențierea celor două categorii prin mijloace uzuale cum ar fi cele proprii cineticii enzimatice, este greu de făcut. Chiar factori tehnici cum ar fi condițiile de purificare a enzimelor, pot interveni în încadrarea artificială a unei enzime într-unul din cele două tipuri menționate. Astfel, dacă în etapele de purificare a unei enzime dependente de un ion metalic se reține și acesta din urmă, enzima se caracterizează printr-o activitate „reziduală" mare (activitate măsurată în absența unei suplimentări a mediului de reacție cu ioni metalici). Cînd purificarea se face în prezența agenților de chelatare, această activitate reziduală se poate reduce la minim, permițînd demonstrarea clară a dependenței activității enzimatice de un anumit ion metalic.

De cele mai multe ori între enzimă, metal și substrat există un raport stoichiometric simplu 1 : 1 : 1, care admite ca posibile patru scheme de coordinare: E—S—M, complecși în care substratul constituie o punte între enzimă și ionul metalic, și care nu poate exista în cazul metalo-enzimelor, E—M—S, complecși în care metalul formează o punte între enzimă și substrat, M—E—S, complecși în care enzima formează o punte între metal și substrat și, în sfîrșit, complecși ciclici. Prin literele E, M, S am subînțeles enzimă, ion metalic, substrat. Cum este de așteptat recunoașterea schemei de coordinare constituie o problemă de prim ordin. După Mildvan, există mai multe procedee tehnice de recunoaștere, unele cu rol orientativ, altele cu valoare probatorie definitivă [1]. Una din metodele cele mai simple și accesibile de diferențiere a schemelor de coordinare este oferită

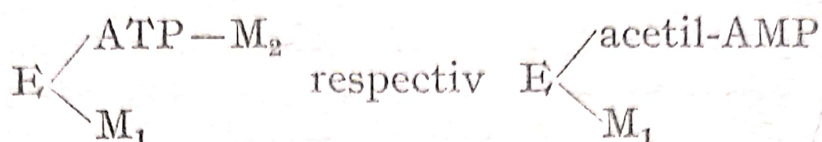
de legarea metalului sau substratului la enzimă, urmărită prin echilibrul de dializă.

În eseuță, această metodă poate fi rezumată la următoarele: în două compartimente, separate printr-o membrană semipermeabilă se introduce mediul de suspendare, tamponat la un anumit pH. Într-unul din compartimente se introduce soluția de enzimă, iar în celălalt ionul metalic sau substratul, marcate radioactiv. Fiind micromolecule, atît ionul metalic cît și substratul difuzează prin membrana semipermeabilă în compartimentul care conține enzima pînă la stabilirea unui echilibru. Determinînd radioactivitatea în cele două compartimente, diferența va reflecta cantitatea de ion metalic sau substrat legată la enzimă. Din cantitatea de ligand fixată la proteină, în funcție de concentrația liberă a ligandului, se poate calcula constanta de formare a complexului enzimă-ion metalic, respectiv enzimă-substrat [2].

În cazul complecșilor E—S—M, metalul se leagă slab sau nespecific la enzimă în absența substratelor. Invers, în cazul complecșilor E—M—S, legarea substratului la enzimă se face slab în absența ionului metalic. În cazul complecșilor ciclici, legarea substratului are loc și în absența ionului metalic, deși este mult favorizată de prezența acestuia. În sfîrșit, complecșii M—E—S se caracterizează prin faptul că legarea fie a metalului, fie a substratului la enzimă este independentă de faptul că se găsesc izolate cu enzima sau în amestec. Mult mai precise însă, în stabilirea schemei de coordinare a complexului ternar enzimă-metal-substrat, sînt metodele RMN și RES. De exemplu, ionul paramagnetic Mn(II) în prezența substratelor (nucleotide în cazul fosfotransferazelor) prezintă un spectru RES caracteristic. În cazul în care se adaugă amestecului Mn-substrat o cantitate de enzimă suficientă pentru formarea complexului ternar, dacă nu apare nici o modificare în spectrul RES al ionului paramagnetic se poate presupune că s-a realizat un complex de tipul E—S—M, cum este cazul complexului ternar creatinfosfatkinază — ADP—Mn [3]. Dimpotrivă, dacă prin adăugarea enzimei se schimbă amplitudinea semnalului RES al amestecului Mn-substrat, este probabil că s-a format un complex E—M—S cum este cazul complexului ternar piruvatkinază-Mn-ADP [4]. Prin experimente similare se poate dovedi și formarea altor tipuri de complecși ternari.

Atunci cînd o enzimă reacționează cu două substrate se pot forma complecși mai complicați, ca în cazul formil-tetrahidrofolat-reductazei sau acetil—CoA—sintetazei. În cazul primei enzime, se formează un complex cuaternar E—ATP—Mn-

tetrahidrofolat, în timp ce în cazul celei de a doua enzime, se formează complecşi intermediari cuprinzînd 1 sau 2 ioni metalici bivalenţi de forma:



În tabelul 9.1, sînt prezentate cîteva enzime care corespund schemelor de coordinare descrise mai sus.

TABELUL 9.1

Enzime care formează complecşi ternari cu substrate şi ioni metalici.

Complex E—S—M	Complex E—M—S sau complex ciclic	Complex S—E—M
Creatinfosfatkinaza (muşchi, creier)	Piruvatkinaza (muşchi, drojdie)	Citratliaza
Adenilatkinaza	Aldolaza	Dopaminhidroxilaza
Argininkinaza	Fosfoenolpiruvat carboxikinaza	Glutaminsintetaza
Fosfogliceratkinaza	Enolaza	UDPG-pirofosforilaza
Hexokinaza	Anhidraza carbonică	

După Mildvan, A.S. (1).

În continuare, vom discuta cîteva cazuri particulare de enzime care reclamă participarea ionilor metalici din clasa hidrolazelor, transferazelor şi oxidoreductazelor.

9.2. ROLUL IONILOR METALICI ÎN REACŢIILE CATALIZATE DE HIDROLAZE

9.2.1. Carboxipeptidaza

Aşa cum rezultă din tabelul 7.1., activitatea hidrolazelor este condiţionată în primul rînd de participarea Zn(II), Mg(II) şi într-o măsură mai mică Mn(II) şi Ca(II). Ca prototip de hidrolaze, ce reclamă ioni metalici, am ales carboxipeptidaza, anhidraza carbonică şi fosfataza alcalină. Prima este una din cele mai binecunoscute metal-enzime, cu structură primară complet elucidată şi structura tridimensională descifrată prin difracţie cu raze X la o rezoluţie de 2 Å [5].

Carboxipeptidaza are greutatea moleculară de 34.000 ceea ce corespunde la aproximativ 300 resturi de aminoacizi. Este

secretată de către pancreas sub forma unui precursor inactiv, zimogen. Prin hidroliza unui fragment de 60 aminoacizi din capătul N-terminal al precursorului rezultă carboxipeptidaza A(α) care conține 307 aminoacizi avînd alanina ca aminoacid N-terminal. Aceasta este specia enzimatică cea mai bine studiată. Cînd fragmentul eliberat din zimogen conține 305 aminoacizi avînd serina ca aminoacid N-terminal, se formează carboxipeptidaza A(β). În sfîrșit, cînd prin hidroliză enzimatică se eliberează 300 de aminoacizi avînd asparagina ca aminoacid N-terminal rezultă carboxipeptidaza A(γ) și respectiv B(δ).

Enzima clivează legătura peptidică în care este implicat aminoacidul C-terminal și care este de regulă un aminoacid aromatic sau alifatic cu lanț ramificat. Pe lîngă activitatea peptidazică carboxipeptidaza exercită și o activitate esterazică, acționînd asupra unor substrate în care gruparea NH din legătura peptidică este înlocuită cu un atom de oxigen. Unul din substratele artificiale preferate de enzimă este gliciltirozina, dipeptidă cu care carboxipeptidaza formează un complex enzimă-substrat deosebit de stabil, susceptibil pentru studii de difracție cu raze X [6]. Pe de altă parte legarea substratului la carboxipeptidază este acompaniată de modificări conformaționale profunde în structura carboxipeptidazei.

Așa cum rezultă și din Fig. 9.I. gruparea carboxilică a substratului se fixează prin legături electrostatice la arginina-145 din molecula carboxipeptidazei; nucleul tirozinei din gliciltirozină este angajat într-un „buzunar hidrofob" iar legătura peptidică ce urmează a fi clivată este astfel aranjată încît intră în contact cu alte trei grupări din molecula carboxipeptidazei: gruparea oxidrilică a Tir 248 care suferă o deplasare de 12 Å în raport cu poziția aminoacidului din enzima nativă; atomul de zinc cu o structură tetraedrică fixat la enzimă prin cel puțin 3 aminoacizi (His 196, His 69 și Glu 72). În absența substratului, Zn(II) coordinează o moleculă de apă; în sfîrșit a treia legătură este realizată de Glu 270.

Mecanismul prin care legătura peptidică este clivată conform modelului susținut mai ales prin date cristalografice, la care se adaugă și alte argumente, se poate rezuma astfel [7, 8, 9]: a) legarea substratului la enzimă are loc cu îndepărtarea moleculei de apă care coordinează ionul de zinc. Funcțiunea CO din legătura peptidică a substratului (gliciltirozină) în urma interacțiunii cu metalul este polarizată prin deplasarea electronilor σ și π favorizînd atacul nucleofilic al acidului glutamic din poziția 270 a enzimei, probabil prin intermediul unei molecule de apă. Semnificația Glu 270 este confirmată de distanța acestui amino-

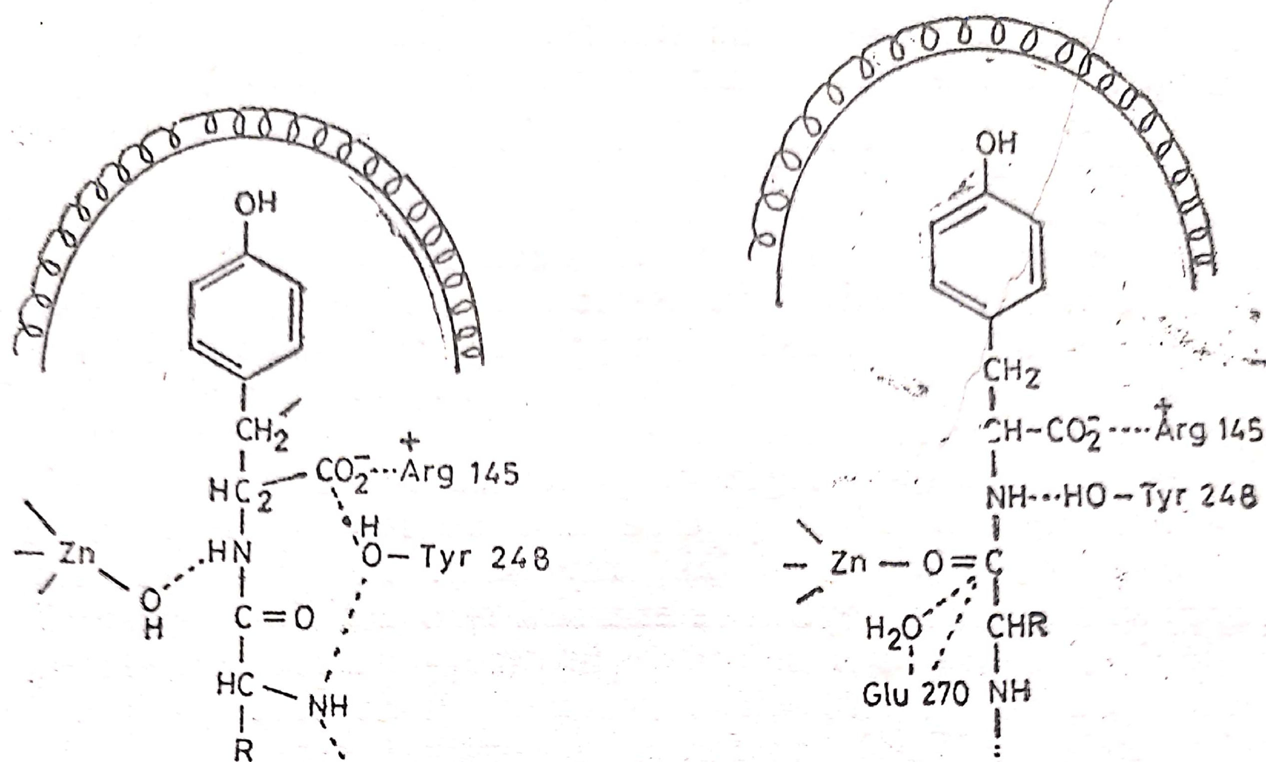


Fig. 9.I. Modele propuse pentru explicarea mecanismului de hidroliză a legăturii peptidice cu participarea Zn(II) din carboxipeptidază.

acid față de gruparea CO din molecula substratului; b) un alt mecanism, deși mai puțin conform datelor experimentale datorită unor impedimente sterice, presupune gruparea CO din molecula substratului orientată în sens opus ionului de zinc (spre deosebire de modelul precedent) care mai păstrează încă legată de el o moleculă de apă sau o grupare OH^- capabilă de atacul grupării CO, din legătura peptidică. Rolul zincului nu ar fi altul decît acela de a crește nucleofilicitatea atacului moleculei de apă sau a grupării OH^-.

Așa cum am amintit carboxipeptidaza posedă și activitate esterazică. În realizarea celor două funcțiuni hidrolitice ale enzimei, rolul diferitelor grupări funcționale nu este însă același. Pe de altă parte înlocuirea ionului de zinc cu alți ioni (în special cobalt) modifică apreciabil funcțiile enzimei. Astfel, dependența activității esterazice și a celei peptidazice de pH prezintă profile diferite ceea ce indică faptul că esterii sînt hidrolizați printr-un mecanism diferit de cel al hidrolizei peptidelor, deși în primul caz datele experimentale nu permit formulări exacte în favoarea unui anumit tip de mecanism. Înlocuirea zincului cu cobalt mărește activitatea peptidazică fapt explicabil prin asemănarea geometriei celor doi ioni în molecula carboxipeptidazei. Înlocuirea zincului cu cadmiu, mercur sau plumb duce la specii a căror funcție esterazică este menținută, dar cu pierderea capacității de hidroliză a legăturilor peptidice din molecula substratului,

în ciuda faptului că enzima modificată în modul amintit poate lega peptide. Rolul diferiților aminoacizi în cataliză a fost demonstrat cu ajutorul reactivilor specifici. Astfel, prin blocarea nucleului tirozinic prin nitrare, acetilare, iodurare, sau cuplare cu 5-diazo-1-H-tetrazol, activitatea peptidazică este inhibată în cea mai mare proporție, în schimb activitatea esterazică este stimulată. Acetilînd carboxipeptidaza A în prezența beta-fenilpropionatului, două resturi tirozinice sînt protejate. În felul acesta s-a identificat tirozina 198 ca făcînd parte din centrul activ alături de Tir 248. În mod similar blocarea Arg 145 cu un exces de 150 de ori de diacetil, duce la pierderea funcției peptidazice în timp ce funcția esterazică este nemodificată [5].

Un alt mod de abordare a mecanismului de acțiune a ionilor metalici în funcțiile catalitice ale carboxipeptidazei este legarea substratelor sau a inhibitorilor la enzima privată de ionul metalic sau avînd atomul de zinc înlocuit cu alte metale. S-a demonstrat astfel că apoenzima este capabilă de legarea peptidelor dar nu și a esterilor. Acest lucru întărește datele obținute prin cristalografie cu raze X conform cărora gruparea NH din legătura peptidică a substratului se leagă printr-o legătură de hidrogen la enzimă (cel mai probabil intermediată de restul tirozinic din molecula carboxipeptidazei) în timp ce legarea esterului reclamă o interacțiune între ionul metalic din molecula enzimei și funcțiunea CO din molecula esterului. Legarea beta-fenilpropionatului la carboxipeptidază reclamă de asemenea prezența ionului metalic probabil din același considerent ca și legarea esterului printr-o interacțiune a acestuia cu funcțiunea carboxilică din molecula inhibitorului. Protecția grupării tirozinice de către inhibitor, așa cum s-a arătat mai sus, indică faptul că beta-fenilpropionatul asemenea substratului interacționează cu un rest tirozinic din molecula carboxipeptidazei.

9.2.2. Anhidraza carbonică

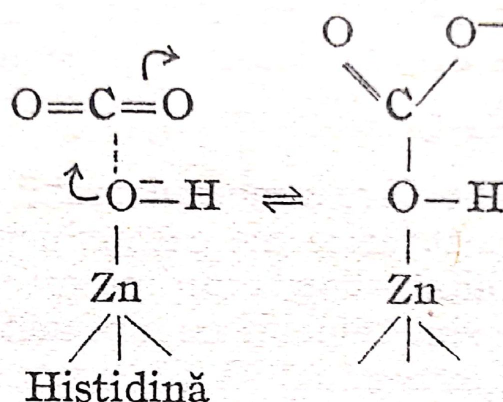
Anhidraza carbonică este o enzimă caracteristică hematiei, participînd la schimburile gazoase ale organismului prin catalizarea următoarei reacții:



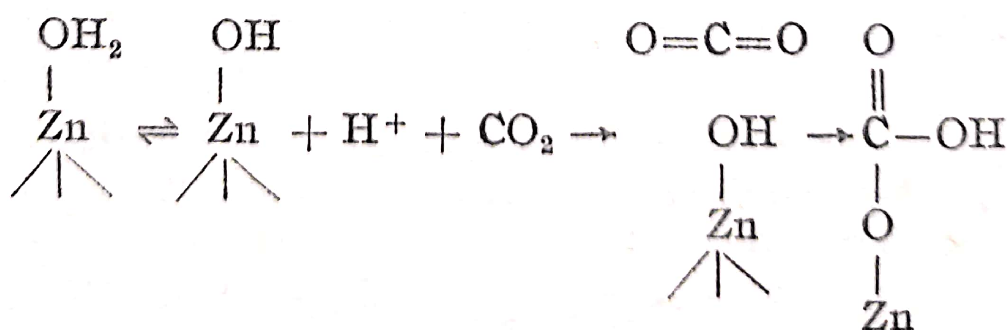
$$HCO_3^- \rightleftharpoons CO_2 + OH^-$$

Enzima are o greutate moleculară de 30.000, ceea ce corespunde la 260 de aminoacizi. Fiecare moleculă are atașat un ion de zinc, prin intermediul nucleului imidazolic a trei resturi

de histidină. Enzima are forma unui elipsoid cu dimensiunile de 40 × 45 × 55 Å. O altă caracteristică a ei este conținutul mare în prolină și absența completă a punților disulfidice. Zincul din molecula anhidrazei carbonice poate fi înlocuit și cu alți ioni metalici cum ar fi manganul, cobaltul, nichelul, cadmiul sau mercurul. Din toate speciile menționate însă, singur cobaltul poate menține activitatea anhidrazei carbonice la nivelul celei conferite de zinc. Speciile cu mangan, nichel, cadmiu sau mercur sînt practic inactive.



Deoarece agenții de chelatare nu inhibă activitatea anhidrazei carbonice, se presupune că molecula de bioxid de carbon nu se leagă direct de atomul de zinc[10], supoziție întărită și de faptul că spectrul diferențial în infraroșu al enzimei în prezența și absența CO_2 arată o mică scădere (2,5 cm^{-1}) a frecvenței de vibrație a CO_2 legat la enzimă [11]. Tot studii I.R. arată că atît CO_2 cît și N_2O intră în competiție pentru centrul activ al enzimei, fără legarea directă la atomul de zinc. Probabil că molecula de bioxid de carbon se leagă la anhidraza carbonică într-o zonă vecină Zn(II), probabil în a doua sferă de coordinare a ionului metalic, în schimb produsul de reacție HCO_3^- este direct coordinat la zinc. Secvența de reacții de mai jos sugerează faptul că ionul de zinc transformă molecula de apă coordinată la metal într-o grupare hidroxil mult mai nucleofilă:



Deși schema de mai sus este mult simplificată, în linii generale intervenția indirectă a metalului în cataliză este dovedită și prin studii cinetice, folosind inhibitori, la care se adaugă cerce-

tări privind modificările spectrale ale enzimei în care cobaltul înlocuiește ionul de zinc [10]. Specia de anhidrază carbonică legată de cobalt permite obținerea unor spectre caracteristice în vizibil ce se modifică în urma legării unor inhibitori cum ar fi anionii monovalenți Cl^-, N_3^-, CN^- și un număr mare de sulfonamide ($X-SO_2NH_2$). Modificările spectrale ale Co-anhidrazei carbonice produse de anionii monovalenți, sugerează scoaterea metalului din enzimă în prezența acestor inhibitori. Pe de altă parte, enzima lipsită de metal (și în egală măsură enzima ce fixează metale care o inactivează) nu este capabilă de legarea acetazolamidei fapt demonstrat prin studii cristalografice. Foarte probabil că în acest fenomen este implicat un rest de histidină care fixează zincul la moleculă, deoarece prin carboximetilarea anhidrazei carbonice care modifică chimic un rest de histidină are loc și slăbirea marcată a legării sulfonamidei [12,13]; Fig. 9.II.

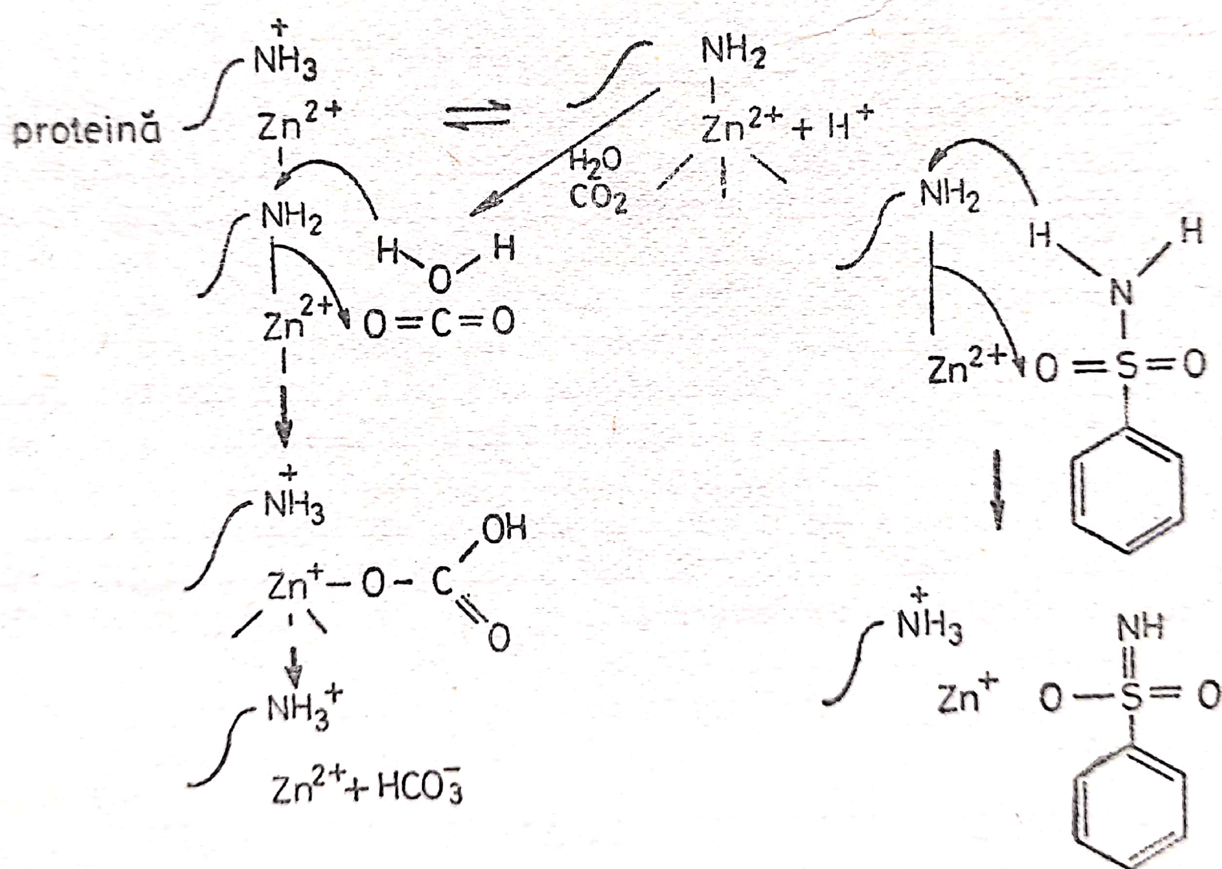


Fig. 9.II. Rolul Zn(II) în activitatea anhidrazei carbonice. În partea stîngă a figurii este reprezentat complexul enzimei cu sulfonamida (inhibitor).

9.2.3. Fosfataza alcalină.

Fosfataza alcalină este o enzimă cu specificitate largă de substrat ce hidrolizează monoesterii acidului fosforic. Cea mai bine cunoscută enzimă este cea izolată din E. coli, are g.m.

89.000 și este constituită din două subunități fiecare capabilă de legarea a doi atomi de zinc. La pH acid enzima disociază în subunități care se reasociază la pH neutru sau prin tratare cu ion de zinc. In prezența 1,10-fenantrolinei doi din cei patru ioni de zinc sînt îndepărtați din molecula enzimei fenomen ce are loc cu pierderea activității enzimatice dar cu menținerea subunităților în stare asociată asemănător enzimei native. Acest lucru dovedește că din cei patru ioni de zinc ai enzimei, numai doi sînt implicați propriu-zis în cataliză, ceilalți doi fiind responsabili de menținerea structurii cuaternare. Se presupune că hidroliza monoesterilor acidului fosforic, are loc cu formarea unui complex enzimă-ester monofosforic (esterificat la funcțiunea OH a unui rest de serină). Acest intermediar reacționează cu molecula apei sau a unui alt acceptor pentru a da naștere la alcool și fosfatul anorganic sau la un nou fosfoester. Este interesant că activitatea hidrolitică și fosfotransferazică a fosfatazei alcaline poate fi discriminată prin tratarea enzimei cu diferiți agenți. Astfel, în prezența unui exces de N—bromsuccinimidă, reactiv care la pH 7,5 oxidează restul lateral al triptofanului, tirozinei, metioninei sau cisteinei, activitatea fosfotransferazică se dublează în timp ce activitatea hidrolazică crește nesemnificativ. Înlocuind zincul cu cobalt activitatea fosfotransferazică se pierde. Dar, printr-un exces de 50 de ori de N-bromsuccinimidă a cobaltenzimei are loc stimularea activității hidrolazice și apariția unei activități fosfotransferazice. Spre deosebire de celelalte două enzime amintite cu excepția faptului că legarea zincului la fosfataza alcalină se face cu participarea a trei resturi de histidină, rolul altor grupări funcționale din molecula enzimei în legarea zincului și mecanismul catalitic este încă insuficient precizat. Cert este însă faptul că substratul are acces dificil la centrul de legare a metalului [14].

9.3. ROLUL IONILOR METALICI ÎN REACȚIILE CATALIZATE DE FOSFOTRANSFERAZE

La modul general o reacție catalizată de fosfotransferază poate fi formulată astfel: NTP + acceptor $\rightleftharpoons$ NDP + acceptor fosforilat, în care rolul de acceptor poate fi jucat de substanțe aparținînd unor clase chimice din cele mai variate, iar prin NTP și NDP am menționat un nucleozid trifosfat și respectiv un nucleozid difosfat. De cele mai multe ori rolul NTP și NDP este

îndeplinit de ATP și respectiv ADP. În anumite situații funcția de donor respectiv de acceptor de fosfat aparține în mod specific altor nucleotide cum ar fi GTP—GDP, UTP—UDP etc. Avînd în vedere că nucleotidele participă în aceste reacții în calitate de complecși cu ioni metalici bivalenți așa cum s-a menționat în capitolul precedent, nu putem discuta mecanismul de acțiune al fosfotransferazelor fără a avea în vedere ionul metalic. Pe de altă parte, formarea complecșilor activi ai nucleotidelor cu ioni bivalenți constituie doar un aspect al semnificației ionilor metalici în reacțiile catalizate de fosfotransferaze. Avînd în vedere participarea destul de diferită a ionilor metalici în acțiunea diferitelor fosfotransferaze, încercările de generalizare sînt încă premature la ora actuală. Deoarece unele aspecte generale au fost discutate în capitolul precedent în cele ce urmează se vor prezenta cîteva cazuri particulare mai bine cunoscute.

9.3.1. Creatinfosfatkinaza

Creatinfosfatchinaza (CPK, EC 2.7.3.2.) catalizează transferul fosfatului terminal din molecula ATP pe creatină:



$$MgATP^{2-} + \text{creatină} \rightleftharpoons MgADP^{-} + \text{creatinfosfat}^{2-} + H^{+}$$

Enzima este destul de larg răspîndită în diverse celule, rolul ei fiziologic constînd în regenerarea ATP necesar proceselor contractile sau de transport. Cristalizată pentru prima oară din mușchiul de iepure, unde reprezintă între 10 și 20% din conținutul proteinelor solubile sarcoplasmatice, CPK constituie unul dintre modelele enzimatice cele mai studiate în vederea cunoașterii structurii sau proprietăților catalitice ale unei enzime. Pe de altă parte alcătuirea ei din subunități diferite determină formarea izoenzimelor CPK cu distribuție tisulară variată. Faptul că în fenomene de citoliză miocardică sau musculară activitatea serică a CPK crește apreciabil, determină ca interesul să depășească cu mult cadrul strict al enzimologiei sau chimiei proteinelor [15—18]. Molecula CPK este dimer alcătuit din subunități identice MM (tip muscular), BB (tip cerebral), sau diferite MB (tip mixt sau hibrid). In timpul evoluției ontogenetice prima formă care apare este BB. În creier această formă se sintetizează în continuare și rămîne caracteristică țesutului cerebral pentru tot restul existenței; în miocard și în fibrele musculare mamifere treptat se dezvoltă pentru a deveni predominantă forma MM a CPK. În tabelul 9.2. este arătată compoziția în aminoacizi a

celor 2 forme ale CPK izolate din mușchiul și creierul de iepure, care arată diferențe suficient de importante pentru a atribui semnificații funcționale diferite celor două enzime în funcție de compoziția lor.

TABELUL 9.2

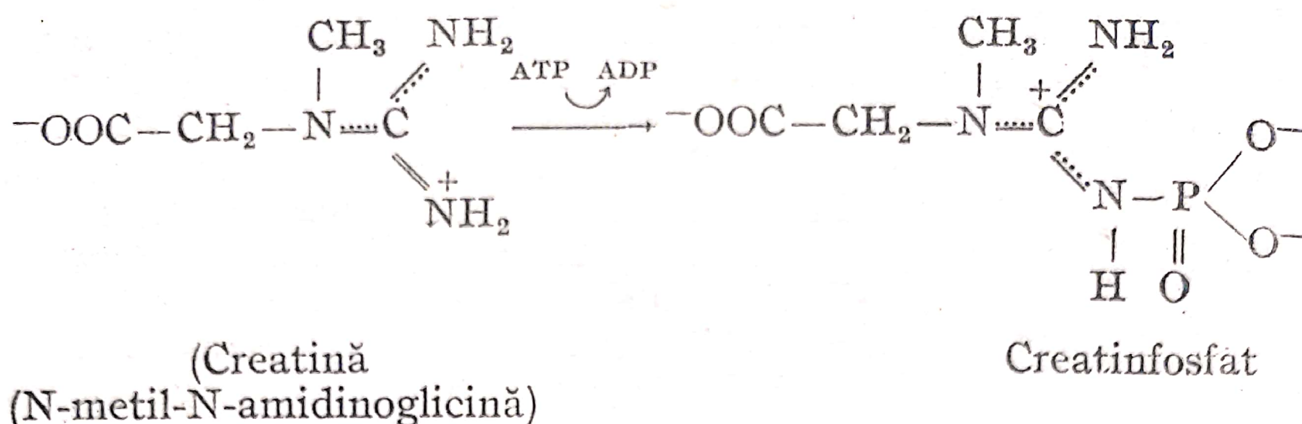
Compoziția în aminoacizi a CPK din mușchiul și creierul de iepure.

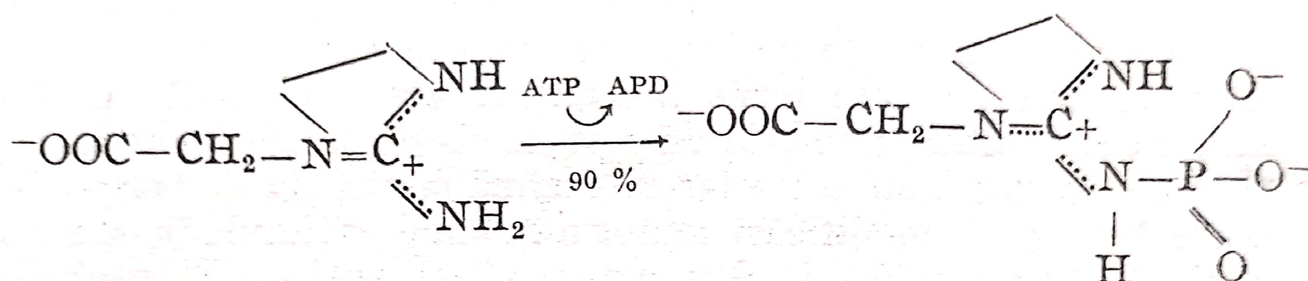
Aminoacid	CPK muscular (MM)	CPK cerebral (BB)
Lis	61	52
His	32	30
Arg	33	22
Asp	83	82
Tre	34	34
Ser	44	32
Glu	78	74
Pro	35	40
Gli	64	65
Ala	26	35
1/2 cistină	—	—
Val	49	47
Met	17	20
Izo	22	30
Leu	72	81
Tir	20	21
Fen	31	41
Trip		
Total	701	706

După Eppenberger, MM, Dawson DM și Kaplan, N.O. J. Biol. Chem., 242, 204, 1967.

Așa cum rezultă din tabel, forma BB conține mai puțini aminoacizi bazici dar ceva mai multă prolină și aminoacizi aromatici. Din cei 360 aminoacizi care constituie o subunitate a CPK numai 10% din numărul total sînt identificați prin poziția lor în lanțul polipeptidic, ceea ce desigur constituie un dezavantaj important în precizarea diferiților aminoacizi în funcțiile catalitice față de enzimele pentru care structura primară este complet elucidată. Un element structural important obținut prin metoda „finger-print" (sau a „amprentelor digitale"), este faptul că forma MM a diferitelor specii prezintă mai multe similitudini structurale decît formele MM și BB de la aceeași specie. Mole-

cula CPK avînd g.m. cuprinsă între 78.500 și 85.100 este compactă, globulară, cu un conținut de 25—30% alfahelix și cu mai puțin de 15% foaie pliantă antiparalelă. Mg (II), Mn (II) Ca (II) și Co(II) sînt activatori ai CPK, în timp ce ionii de bariu, stronțiu, nichel, crom, cadmiu și zinc creează specii inactive sau chiar inhibă activitatea enzimatică [19]. Dacă considerăm activitatea CPK în prezență de Mg(II) ca 100%, efectul Mn(II) este 45%, iar cel al Ca(II) de numai 16%. Excesul de ioni metalici inhibă necompetitiv activitatea CPK. Deoarece Mg(II) se leagă foarte slab la enzimă, iar legarea $MgATP^{2-}$ și ATP^{4-} este identică în absența creatinei la pH 7,9 și temperatura de 3° este de presupus că complexul ternar este de forma enzimă-nucleotid-ion metalic. Dintre aminoacizii care intră în centrul activ al CPK notăm pentru fiecare subunitate cîte un rest de cisteină, lizină, histidină și tirozină. Legarea substratelor la enzimă și reacția de transfosforilare decurge cu modificări conformaționale profunde în structura CPK. Astfel, inhibiția enzimei de către anticorpii specifici poate fi împiedicată în prezența creatinei și $MgATP^{2-}$ dar niciodată în prezența unui singur substrat [20]. Pe de altă parte, legarea unui substrat la enzimă, modifică afinitatea CPK pentru celălalt substrat. Mai exact creatina este capabilă să modifice conformația enzimei prin legarea la aceasta, dacă în prealabil CPK are fixat complexul nucleotid-ion metalic ; în absența acestuia din urmă creatina singură nu poate induce modificări conformaționale. Pe de altă parte, nucleotidul prin legare la CPK modifică conformația enzimei independent de faptul că aceasta avea sau nu fixată în prealabil molecula de creatină. Modificările conformaționale determinate de formarea complexului cuaternar creatină—CPK—ADP—Mg sînt dovedite de reactivitatea modificată a grupării SH din centrul activ, față de iodacetamidă ca și susceptibilitatea enzimei la digestia triptică. Geometria centrului activ al CPK și mecanismul de transfer al restului fosfatic de pe ATP pe creatină au devenit cunoscute prin combinarea unor metode diferite care comportă folosirea analogilor de creatină și nucleotide în măsurători cinetice, determinări RES în prezența complexului $MnATP^{2-}$ sau $MnADP^{-}$ sau în prezența markerilor de spin, determinarea timpului de relaxare a protonului apei, asociat la ionul bivalent, și reactivitatea aminoacizilor din centrul activ față de diverși reactivi specifici. În urma acestor determinări, zona de legare a creatinei la CPK se presupune a fi reprezentată de un fel de falie îngustă, cuprinzînd un loc specific de legare a grupării N-metil, ceea ce favorizează dispoziția grupării planare a guanidinei de așa manieră încît să recepționeze fosfatul terminal al ATP în poziție trans.





1-carboximetil -2-imino-
imidazolul

Creșterea lungimii catenei, legată de atomul de azot secundar al grupării guanidinice, sau înlocuirea acestuia cu hidrogen duce la scăderea proprietăților de substrat ale analogilor de creatină. Pe de altă parte , 1-carboximetil 2-iminoimidazolul este un substrat foarte bun pentru CPK, cu o eficiență de 90% față de cea a creatinei, ceea ce arată faptul că pozițiile și unghiurile dintre atomii fixați în structura ciclică sînt foarte apropiate de cele adoptate de creatină în complexul pe care-l formează cu CPK. În mod similar, enzima este specifică și față de donorul de fosfat ; cele mai critice poziții fiind prezența grupării NH_2 la C_6 al nucleului purinic și integritatea moleculei de riboză. Există o strînsă interdependență între viteza de transfer a grupării fosfat de pe nucleotidul donor, reactivitatea grupării SH din centrul activ față de iodacetamidă și timpul de relaxare a protonului apei în prezența ADP, IDP sau GDP.

Rolul ionului metalic constă în asigurarea unei anumite conformații a lanțului fosfatic din molecula ATP și neutralizarea sarcinilor negative ale acestor grupări, făcîndu-le mai susceptibile atacului nucleofilic. Complexul E—S—M este destul de rigid, așa cum rezultă și din măsurarea timpului de relaxare a protonului apei ; în prima sferă de coordinare a Mn(II) numărul moleculelor de apă fiind de 1/2. Determinările RES ale enzimei marcate cu N—(1-oxil-2,2,5,5—tetrametil-3-pirolidinil) iodace-

tamidă şi în prezenţa complexului $MnADP^-$ sau $MnATP^{2-}$, permite măsurarea distanţei dintre cei doi centri paramagnetici. În mod similar, prin măsurători RMN, este posibil să se calculeze distanţa între diferiţi atomi de hidrogen ai creatinei şi nucleotid sau ionul metalic (tabel 9.3).

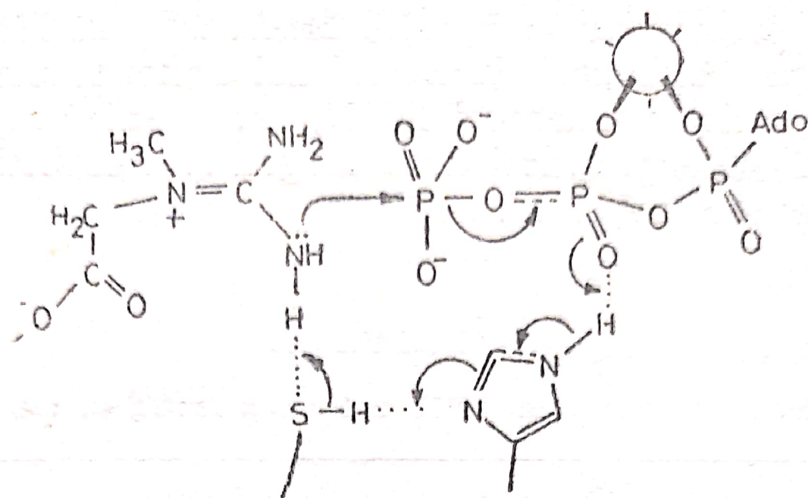
TABELUL 9.3

Distanţa dintre substrate în CPK nativ sau tratat cu markeri de spin.

Sistem	Centrul para-magnetic	Ligand	Distanţa	(Å)
CPK+ADP	Mn(II)	creatină	$Mn-CH_2$	9,8
			$MnCH_3$	10,3
CPK tratată cu markeri de spin	N—O	MnATP	N—Mn	11,5
		MnADP	N—Mn	7,5
		MgADP	$N-H_2$	9,3
			$N-H_8$	8,3
			$N-H_{1'}$	9,7
		ADP	$N-H_2$	7,9
			$N-H_8$	7,8
			$N-H_{1'}$	9,9
		Creatină	$N-CH_2$	10,6
			$N-CH_3$	10,5

Prin cifrele ataşate la atomul de hidrogen sînt indicate poziţiile acestora în nucleul purinic al adeninei respectiv al ribozei.

Reacţia de transfer a grupării fosfat de pe ATP pe creatină este imaginată de Crane în două etape: a) transferul grupării fosfatice; b) schimbul ligand-ion metalic acompaniat de modificări conformaţionale ale enzimei. Transferul grupării fosfat poate determina o pseudorotaţie a intermediarului fosforilat pentacoordinat. După Watts, B, care reprezintă gruparea SH liberă din centrul activ al CPK, prin atragerea protonului de la gruparea guanidinică a creatinei, iniţiază un flux circulant de electroni de la gruparea guanidinică, prin resturile fosfat gama şi beta ale ATP, înapoi la tiol. În felul acesta, transferul fosfatului de pe ATP pe creatină, este mult uşurat. (fig. 9.III). Rolul metalului este probabil mult mai complex decît cel menţionat pînă acum prin aceea că serveşte ca suport pentru modificările conformaţionale ale complexului terţiar şi cuaternar şi pentru pseudorotarea în reacţia de transfer a restului fosfat.



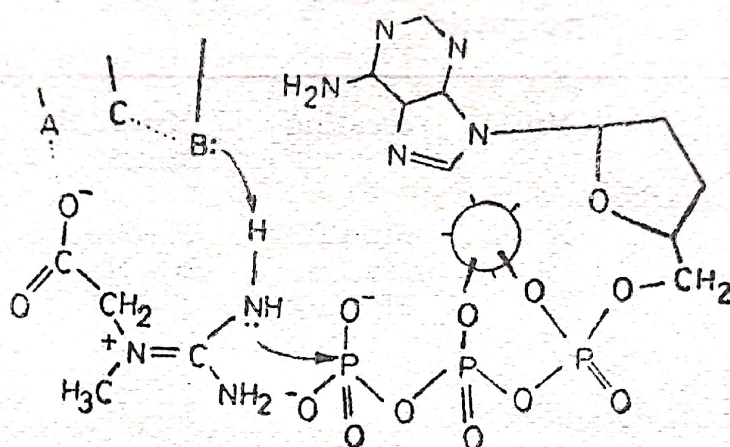


Fig. 9.III. Reprezentarea mecanismului de acțiune a creatinfosfatkinazei cu participarea Mg(II).

9.3.2. Adenilatkinaza

Adenilatkinaza (AK, EC 2.7.4.3), participă în reacția de interconversiune a nucleotidelor adenilice : ATP + AMP $\rightleftharpoons$ 2ADP. Enzima din țesutul muscular are greutatea moleculară de 22.000 ; datorită dimensiunilor relativ mici AK este susceptibilă unui studiu complex al structurii primare și tridimensionale ca și urmăririi interacțiunii substratelor cu enzima, prin RMN. AK din mușchiul porcin conține 194 aminoacizi, organizați într-o structură tridimensională compactă. 2/3 din molecula AK are o structură regulată, 55% corespunzînd la alfa-helix răsucit spre dreapta și 13% la modelul în foaie pliantă. Deși nu s-a putut obține, în stare cristalină, complexul AK cu nucleotide adenilice, ceea ce ar fi lămurit în mare măsură natura interacțiunilor cu substratul și cu ionul metalic, s-a obținut un complex cristalin AK—AP_5A. Acest dinucleotid de sinteză (P^1, P^5-di (adenozină-5′) pentafosfat) este inhibitor competitiv al AK față de toate cele trei

nucleotide avînd K_i în jur de 10^{-8} M, ceea ce indică o capacitate excepțională de legare la enzimă. Deoarece analogii similari cu grupări fosfatice mai puține sau mai multe AP_4A și AP_6A sînt inhibitori mai slabi, cu trei, respectiv un ordin de mărime, se poate presupune existența unei orientări mutuale rigide, a celor doi centri din molecula AK, care leagă ATP și respectiv AMP. (fig. 9. IV).

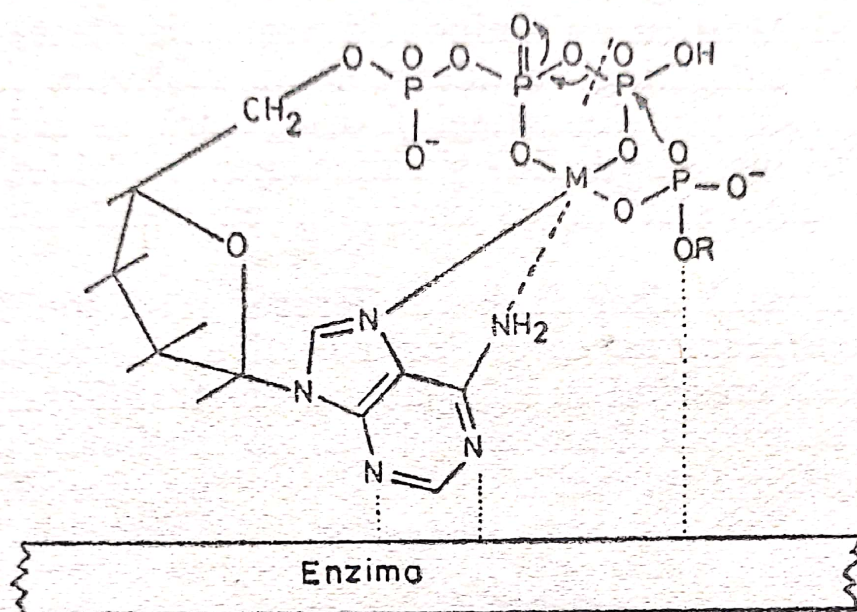


Fig. 9.IV. Orientarea mutuală a ATP și AMP pentru transferul grupării fosfat de către adenilatkinază (miokinază).

Datele de structură primară, difracție cu raze X la rezoluție de 3 Å coroborate cu RMN protonic, indică, dintre aminoacizii importanți din centrul activ implicați în funcția catalitică, His 36 Cis 25 și Asp 93 [21, 22]. Primul aminoacid este situat într-o falie a moleculei AK situată la o distanță de aproximativ 5 Å de Cis 25. O asemenea apropiere a perechilor de aminoacizi His-Cis este semnalată și în molecula CPK și a ATP-azei de membrană dependentă de sodiu și potasiu, fără a putea însă preciza dacă este vorba de o regulă mai generală sau de simple coincidențe. Asp 93 este orientat, de asemenea, spre interiorul faliei stabilind legături de hidrogen cu His 36 și probabil și cu Cis 25. Ionul metalic situat la o distanță de 10 Å și respectiv 5 Å de His 36 și Asp 93 asigură un spațiu suficient pentru pătrunderea unui rest fosfat din molecula ATP care poate intra în contact cu Asp 93. În imediata vecinătate a acestor trei aminoacizi implicați în funcția catalitică se găsesc două „buzunare" hidrofobe, unul fiind cuprins între Gli 20 și Val 179, celălalt între Gli 94 și Tir 153. Din punct de vedere geometric este posibil ca primul „buzunar" să cuprindă nucleul adenilic

al AMP, iar cel de al doilea nucleul adenilic al ATP, astfel încît restul fosfat al AMP și fosfatul terminal din molecula ATP să se întîlnească într-o zonă cuprinsă între His 36 și ionul metalic. O asemenea localizare a substratelor este comparabilă cu topologia centrului de legare al nucleotidelor și în cazul altor proteine diferite ca acțiune și rol fiziologic de adenilatkinază (Fig. 9.V).

Datele RMN, deși nu indică o interacțiune directă a nucleului adenilic al AMP cu un aminoacid aromatic atestă însă interacțiuni de tip „stacking" a adeninei din molecula ATP cu Tir 153 din molecula proteinenzimei și o legătură de hidrogen între N_1 al aceluiași nucleu adenilic și funcțiunea oxidrilică a tirozinei 153. Aceste date sînt în concordanță cu rezultatele cristalografice.

Ca și în cazul altor fosfotransferaze, rolul ionului metalic constă în neutralizarea sarcinilor negative ale fosfatului terminal din ATP crescînd în felul acesta electrofilicitatea fosfatului, influențînd totodată modificările conformaționale ale lanțului fosfatic despre care s-a mai discutat și care favorizează transferul acestei grupări pe molecula acceptor.

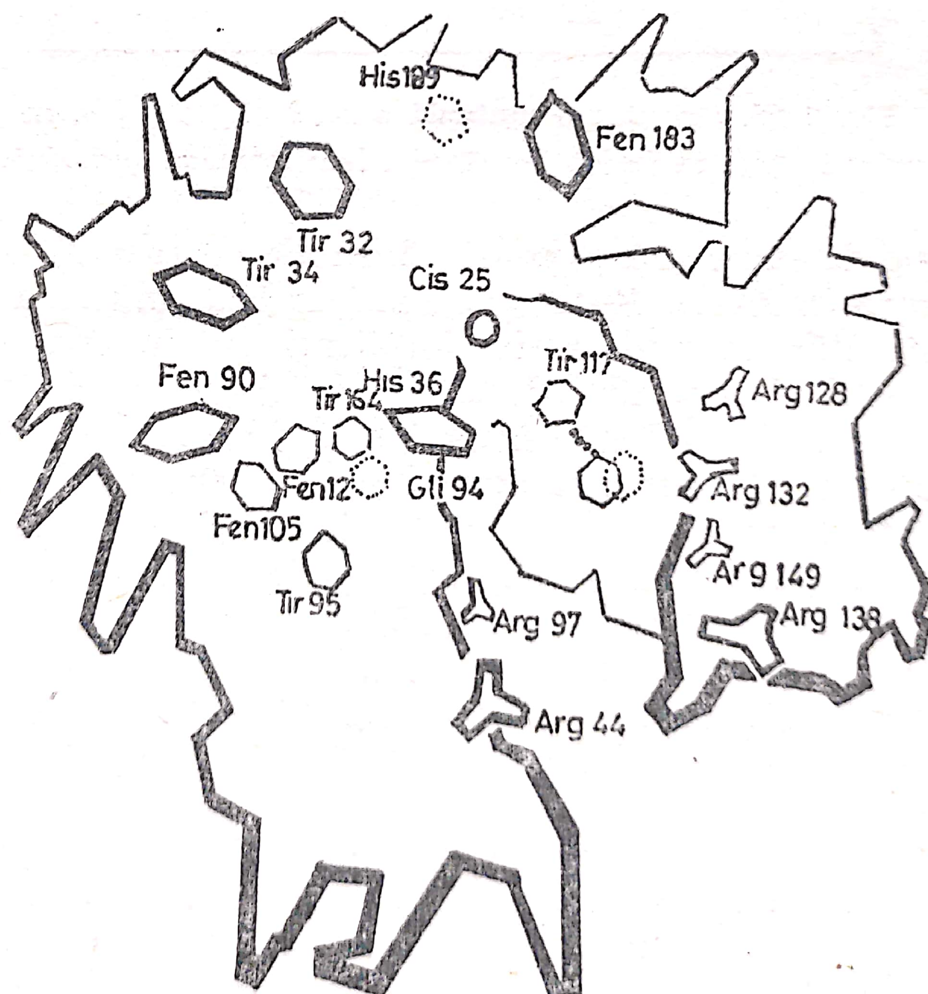
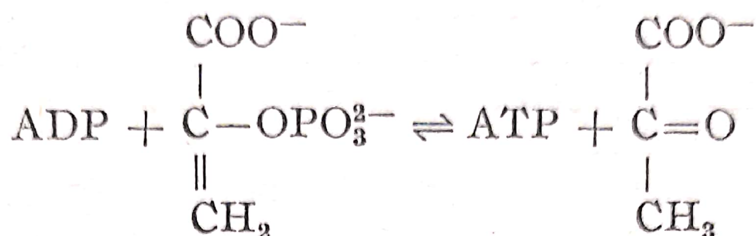


Fig. 9.V. Structura tridimensională simplificată a adenilatkinazei cu menționarea principalelor resturi de aminoacizi implicate în cataliză.

9.3.3. Piruvatkinaza

Enzimă larg răspîndită în toate celulele vii, catalizează reacţia :



Datorită poziţiei cheie a acestei enzime în metabolismul intermediar în glicoliză, ca şi proprietăţilor diferite de la un ţesut la altul, PK constituie un model ideal de investigaţie a relaţiilor dintre structura unei proteine şi proprietăţile ei biologice. Astfel, în timp ce PK din ţesutul muscular este o enzimă michaeliană, enzima din eritrocit, celulele parenchimatoase hepatice, drojdie are proprietăţi alosterice. Pe de altă parte, piruvatkinaza din unele ţesuturi suferă variaţii cantitative importante în funcţie de variaţia unor factori fiziologici, ca regimul alimentar sau secreţia de hormoni glucocorticoizi. Dintre cele mai caracterizate forme ale piruvatkinazei la ora actuală este enzima din muşchiul de iepure şi cea din drojdie. Prima are greutatea moleculară 237.000 fiind alcătuită din patru monomeri. O primă caracteristică a piruvatkinazei este nevoia absolută de cationi monovalenţi în vederea exercitării funcţiilor catalitice (tabel 9.4). Aşa cum rezultă din tabel, există o strînsă interdependenţă între raza ionului monovalent şi capacitatea acti-

TABELUL 9.4

Rolul activator al cationilor monovalenţi asupra piruvatkinazei din muşchiul de iepure.

Ion	Raza (Å)	V_{max}/V^{K+}_{max}	Conc. optimă (mM)
Li	0,68	2	100
Na	0,97	8	100
K	1,33	100	100
NH_4	1,43	81	50
Rb	1,47	65	100
Tl	1,47	61	3
Cs	1,67	9	100

După Kayne (4).

vatoare, la maxim fiind situat ionul de potasiu, cu raza de 1,33 Å. Deoarece Tl^{205} este un bun substituent pentru potasiu, primul s-a dovedit deosebit de util în investigații RMN care au permis stabilirea distanțelor dintre ionul monovalent și cel bivalent în enzima la care este sau nu atașată molecula substratului, acidul fosfoenolpiruvic. Aceste distanțe sînt de 8,2 și respectiv, 4,7 Å, dovedind faptul că ionul monovalent este situat foarte aproape de centrul activ și că probabil participă la coordinarea acidului fosfoenolpiruvic la nivelul funcției carboxilice. Scurtarea distanței dintre ionul monovalent și cel bivalent în urma legării acidului fosfoenolpiruvic la piruvatkinază, constituie o dovadă a faptului că legarea substratului atrage după sine modificări în conformația enzimei similare celor întîlnite la CPK [23, 24].

Ionul bivalent formează un complex de tipul E—M—S, așa cum a rezultat din spectrul RES al manganului în complexul său cu enzima și respectiv cu enzima la care se atașează molecula de substrat. Rolul ionului bivalent nu se reduce însă la „activarea" substratului, el participînd atît în funcțiile catalitice, cît și în echilibrul care există între diferitele forme conformaționale ale enzimei și care, la rîndul lor, sînt responsabile de proprietățile reglatoare ale piruvatkinazei în fluxul glicolitic. Pentru majoritatea formelor de PK, ionul preferat este Mg(II), în unele cazuri însă este preferat Mn(II), ceea ce desigur constituie un avantaj pentru cercetări RES. Alături de cei doi ioni bivalenți și Cd(II), Co(II) sînt capabili de formarea unor complecși activi, în timp ce Zn(II) și Ni(II) sînt lipsiți de activitate.

Recent Mildvan și colab., folosind proprietățile paramagnetice ale Mn(II) și Co(II) au putut calcula, cu eroare de numai $\pm 10\%$, distanțele dintre ionii bivalenți și diferitele grupări funcționale din molecula acidului fosfoenolpiruvic și ADP în cursul reacției catalizate de PK [23, 24]. Conform tabelului 9.5., distanța dintre ionul bivalent legat la PK și de fosfatul acidului fosfoenolpiruvic ca și atomii alfa, beta și gama de fosfat al ATP este în jurul valorii de 5 Å. Această asemănare a distanțelor interatomice concordă cu fenomenul oarecum neobișnuit constatat de Reynard și colab. [25] că ATP în calitate de produs de reacție este inhibitor competitiv atît față de ADP cît și față de acidul fosfoenolpiruvic. Avînd în vedere structura compușilor amintiți, era de așteptat ca ATP să fie inhibitor competitiv numai față de unul din substrate, ADP. Acest paradox este împins mai departe dacă avem în vedere că la piruvatkinaza din drojdie ATP este inhibitor competitiv numai față de acidul fosfoenolpiruvic și necompetitiv față de ADP.

Faptul că distanța dintre ionul bivalent și atomii de hidro-

TABEL 9.5

Distanțele interatomice în complecșii piruvatkinazei din mușchiul de iepure cu substrate, produși de reacție și ioni metalici.

Complex	Distanța	Å
PK—Co—K—PEP	Co———P	5 ±0,5
	Co———H	9 ±1
PK—Mn—K—piruvat	Mn———COO	7,28±0,08
	Mn———CO	7,27±0,04
	Mn———CH_3	8,2 ±0,5
PK—Mn—K—ATP	Mn———P(gama)	4,9 ±0,6
	Mn———P(beta)	5,0 ±0,5
	Mn———P(alfa)	5,1 ±0,5
	Mn———H_2	9,1 ±1
	Mn———H_8	6,0 ±0,6
	Mn———H_1'	7,5 ±0,8
PK—Mg—K—CrATP-piruvat	Cr———COO	6,1 ±0,4
	Cr———CO	6,1 ±0,3
	Cr———CH_3	7,9 ±0,5
PK—Mn—Tl—PEP	Mn———Tl	4,9 ±0,5

PEP = acid fosfoenolpiruvic.
După Mildvan și colab. (23).

gen din acidul fosfoenolpiruvic, respectiv, piruvic este identică, cifrîndu-se la 9 Å, indică, că atît substratul, cît și produsul de reacție se leagă de aceeași zonă din molecula enzimei.

În baza acestor date, Mildvan și colab. [23] au construit un model spațial al complexului piruvatkinazei cu substratele sau produșii de reacție, conform schemei din figura (9.VI).

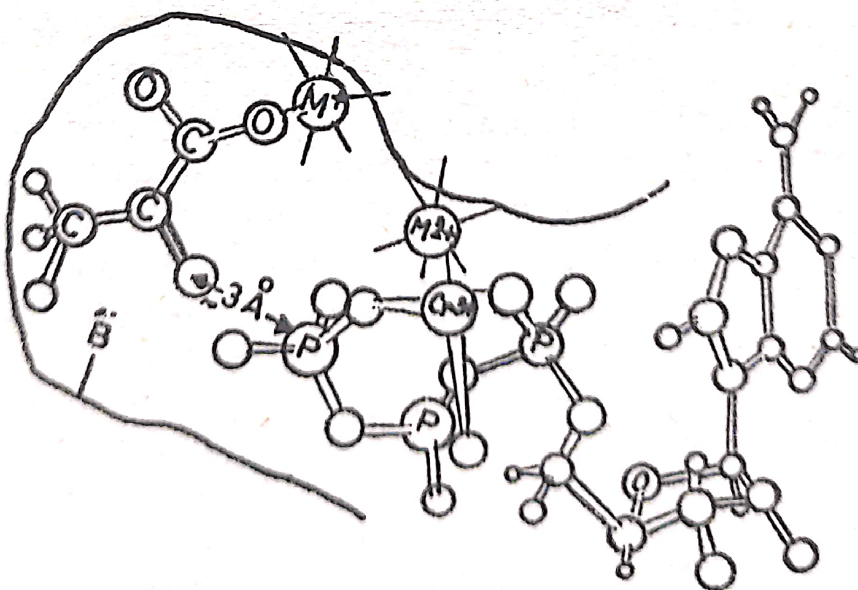
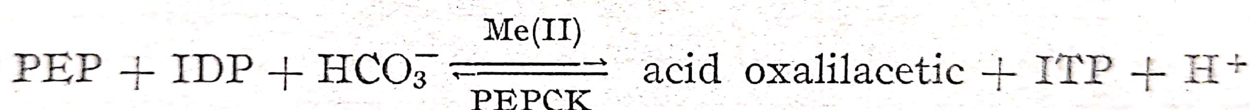


Fig. 9.VI. Complexul piruvatkinazei cu produșii de reacție în care participă obligator ioni metalici mono și bivalenți.

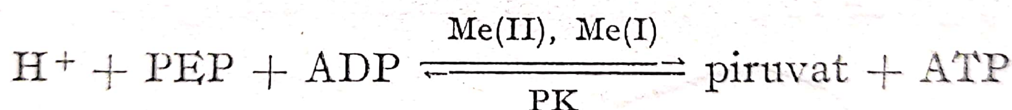
Așa cum se constată în figura 9.VI. în complexul PK—Me(I)-Me(II)-CrATP-piruvat, gruparea fosfat gama, din molecula ATP, este în contact (3Å) cu funcțiunea carbonilică a piruvatului, ceea ce sugerează posibilitatea unui transfer direct al fosfatului de pe acidul fosfoenolpiruvic pe ADP, fără fosforilarea prealabilă a enzimei, cum este cazul unei alte fosfotransferaze, ca nucleoziddifosfatkinaza [26]. Corelînd acest model cu datele cinetice [25, 27] putem să ne imaginăm și secvența legării substratelor la enzima din mușchiul de iepure și modul în care produșii de reacție părăsesc enzima odată ce reacția de transfosforilare a avut loc. Astfel, primul substrat care se leagă la piruvatkinază este acidul fosfoenolpiruvic urmat de ADP și Mg(II). De pe enzimă se eliberează apoi acidul piruvic și MgATP; Mg(II) constituind o punte între acidul fosfoenolpiruvic și ADP.

9.3.4. Fosfoenolpiruvatcarboxikinaza (PEPCK, EC. 4.1.1.32)

Deși nu se încadrează în aceeași clasă a fosfotransferazelor descrise anterior, menționăm PEPCK la acest capitol datorită faptului că are multe asemănări cu piruvatkinaza: transferul unei grupări fosfat pe un acceptor nucleofil, o deplasare tautomeră a dublei legături și adiția unui atom cu sarcină pozitivă la C_3 al acidului fosfoenolpiruvic [28—30].



$$PEP + IDP + HCO_3^- \underset{PEPCK}{\overset{Me(II)}{\rightleftharpoons}} \text{acid oxalilacetic} + ITP + H^+$$



$$H^+ + PEP + ADP \underset{PK}{\overset{Me(II),\ Me(I)}{\rightleftharpoons}} \text{piruvat} + ATP$$

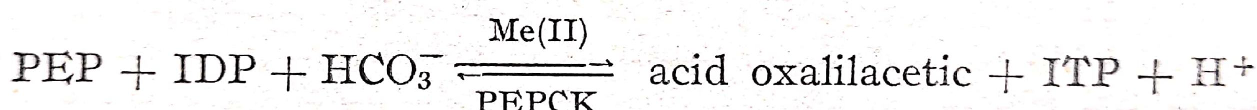
În general, aceleași metode de investigație ca cele discutate la piruvatkinază au dus la concluzia existenței unei mari asemănări între reacția catalizată de cele două enzime.

PEPCK are de asemenea un rol metabolic deosebit de important în procesul de gluconeogeneză. În ciuda unor investigații cinetice sau fizice laborioase, putem corela proprietățile enzimei cu funcțiile metabolice, în mai mică măsură decît în cazul piruvatkinazei. Pe baza datelor cinetice Miller și Lane [30] propun următoarea schemă a secvenței reacțiilor catalizate de PEPCK. Acidul fosfoenolpiruvic se leagă la enzimă înaintea IDP sau CO_2, legare care are loc înainte sau după fixarea ionului metalic bivalent în cele mai multe cazuri Mn(II). Complexul ternar PEPCK-Mn-PEP leagă apoi în ordine întîmplătoare IDP sau CO_2, pentru a forma complexul cuaternar, pentru ca,

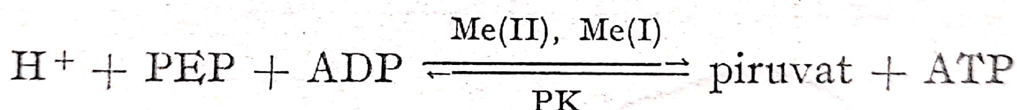
Așa cum se constată în figura 9.VI. în complexul PK—Me(I)-Me(II)-CrATP-piruvat, gruparea fosfat gama, din molecula ATP, este în contact (3Å) cu funcțiunea carbonilică a piruvatului, ceea ce sugerează posibilitatea unui transfer direct al fosfatului de pe acidul fosfoenolpiruvic pe ADP, fără fosforilarea prealabilă a enzimei, cum este cazul unei alte fosfotransferaze, ca nucleoziddifosfatkinaza [26]. Corelînd acest model cu datele cinetice [25, 27] putem să ne imaginăm și secvența legării substratelor la enzima din mușchiul de iepure și modul în care produșii de reacție părăsesc enzima odată ce reacția de transfosforilare a avut loc. Astfel, primul substrat care se leagă la piruvatkinază este acidul fosfoenolpiruvic urmat de ADP și Mg(II). De pe enzimă se eliberează apoi acidul piruvic și MgATP; Mg(II) constituind o punte între acidul fosfoenolpiruvic și ADP.

9.3.4. Fosfoenolpiruvatcarboxikinaza (PEPCK, EC. 4.1.1.32)

Deși nu se încadrează în aceeași clasă a fosfotransferazelor descrise anterior, menționăm PEPCK la acest capitol datorită faptului că are multe asemănări cu piruvatkinaza: transferul unei grupări fosfat pe un acceptor nucleofil, o deplasare tautomeră a dublei legături și adiția unui atom cu sarcină pozitivă la C_3 al acidului fosfoenolpiruvic [28—30].



$$PEP + IDP + HCO_3^- \underset{PEPCK}{\overset{Me(II)}{\rightleftharpoons}} \text{acid oxalilacetic} + ITP + H^+$$



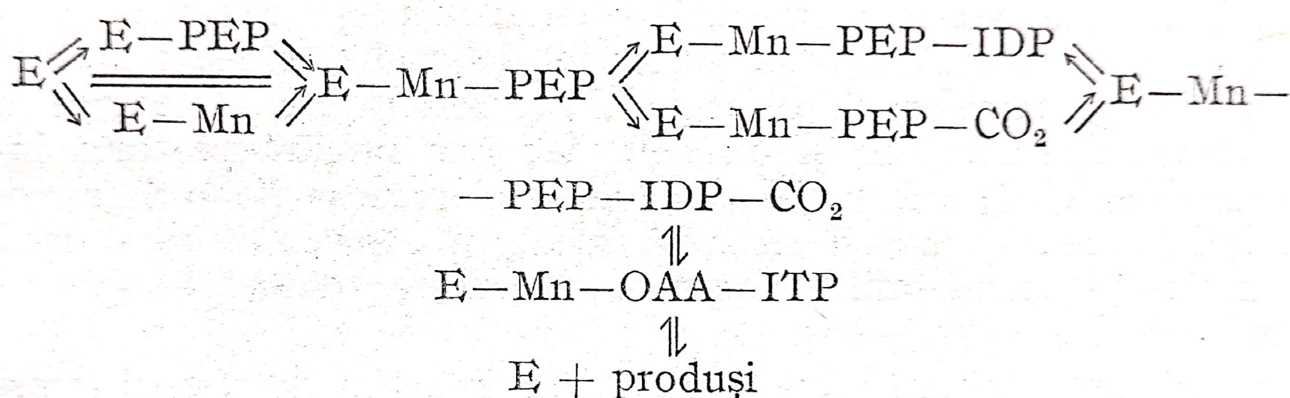
$$H^+ + PEP + ADP \underset{PK}{\overset{Me(II),\ Me(I)}{\rightleftharpoons}} \text{piruvat} + ATP$$

În general, aceleași metode de investigație ca cele discutate la piruvatkinază au dus la concluzia existenței unei mari asemănări între reacția catalizată de cele două enzime.

PEPCK are de asemenea un rol metabolic deosebit de important în procesul de gluconeogeneză. În ciuda unor investigații cinetice sau fizice laborioase, putem corela proprietățile enzimei cu funcțiile metabolice, în mai mică măsură decît în cazul piruvatkinazei. Pe baza datelor cinetice Miller și Lane [30] propun următoarea schemă a secvenței reacțiilor catalizate de PEPCK. Acidul fosfoenolpiruvic se leagă la enzimă înaintea IDP sau CO_2, legare care are loc înainte sau după fixarea ionului metalic bivalent în cele mai multe cazuri Mn(II). Complexul ternar PEPCK-Mn-PEP leagă apoi în ordine întîmplătoare IDP sau CO_2, pentru a forma complexul cuaternar, pentru ca,

în cele din urmă, să se lege şi cel de al treilea substrat. Din toate aceste date reţinem faptul că Mn(II) se leagă direct la enzimă într-un raport de 1 : 1, favorizînd legarea substratului cel mai probabil prin stabilirea unei punţi între PEP şi PEPCK. În această ordine de idei, ar mai fi de amintit că, de cele mai multe ori, activitatea maximală a enzimei din diferite specii se realizează în prezenţa unui amestec de Mn(II) şi Mg(II), probabil prin faptul că primul cation interacţionează direct cu enzima, iar cel de al doilea formează complexul activ cu GTP. Un fapt curios este efectul inhibitor al EDTA sau altor agenţi chelatanţi asupra reacţiei de decarboxilare a acidului oxalilacetic la acidul piruvic (una din reacţiile „parţiale" catalizate de enzimă) deşi decarboxilarea propriu-zisă nu reclamă ioni metalici.

Secvenţa posibilă a reacţiilor de formare a acidului fosfoenolpiruvic catalizate de PEPCK este următoarea:



La aceasta mai putem adăuga studiul mecanismului de formare a complexului enzimă-substrate conform Fig. 9.VII. care este susţinut atît de unele argumente cinetice cît şi

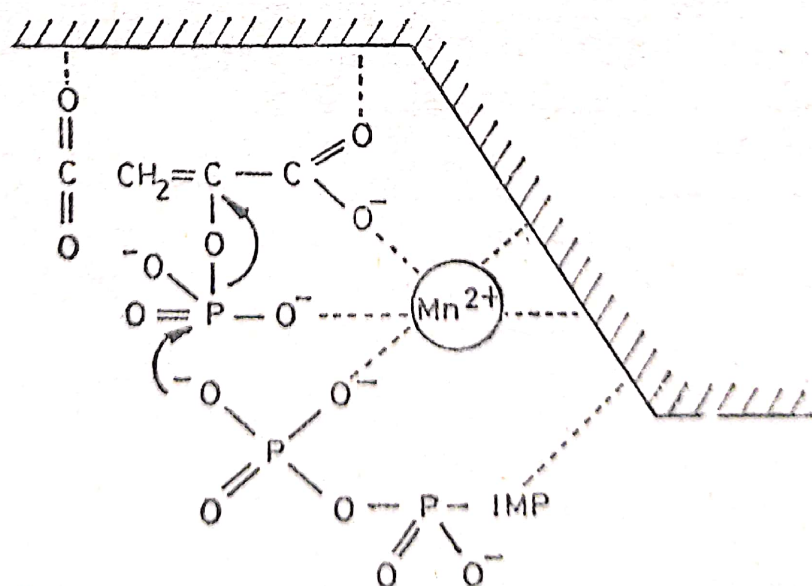
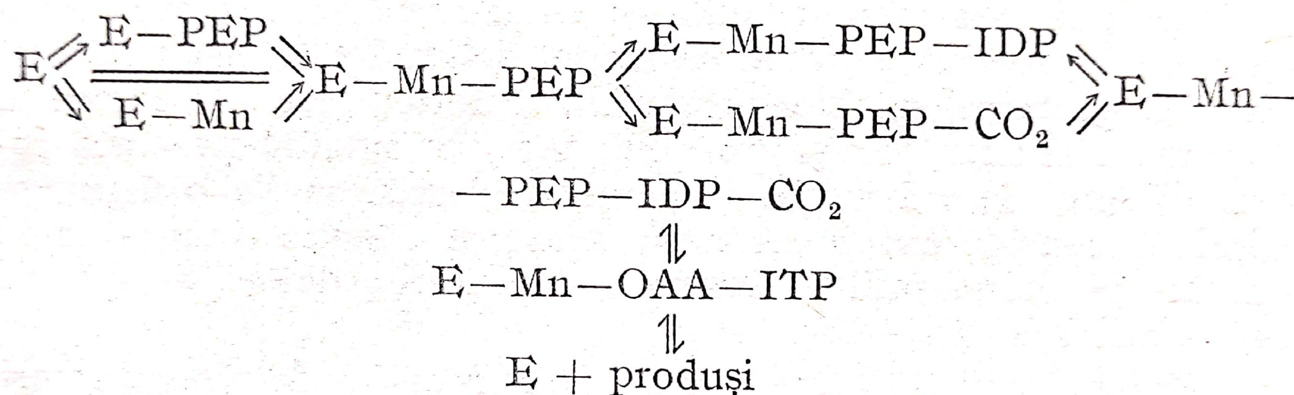


Fig. 9.VII. Legarea substratelor şi a ionului metalic la molecula fosfoenolpiruvatcarboxikinazei (PEPCK).

în cele din urmă, să se lege şi cel de al treilea substrat. Din toate aceste date reţinem faptul că Mn(II) se leagă direct la enzimă într-un raport de 1 : 1, favorizînd legarea substratului cel mai probabil prin stabilirea unei punţi între PEP şi PEPCK. În această ordine de idei, ar mai fi de amintit că, de cele mai multe ori, activitatea maximală a enzimei din diferite specii se realizează în prezenţa unui amestec de Mn(II) şi Mg(II), probabil prin faptul că primul cation interacţionează direct cu enzima, iar cel de al doilea formează complexul activ cu GTP. Un fapt curios este efectul inhibitor al EDTA sau altor agenţi chelatanţi asupra reacţiei de decarboxilare a acidului oxalilacetic la acidul piruvic (una din reacţiile „parţiale" catalizate de enzimă) deşi decarboxilarea propriu-zisă nu reclamă ioni metalici.

Secvenţa posibilă a reacţiilor de formare a acidului fosfoenolpiruvic catalizate de PEPCK este următoarea:



La aceasta mai putem adăuga studiul mecanismului de formare a complexului enzimă-substrate conform Fig. 9.VII. care este susţinut atît de unele argumente cinetice cît şi

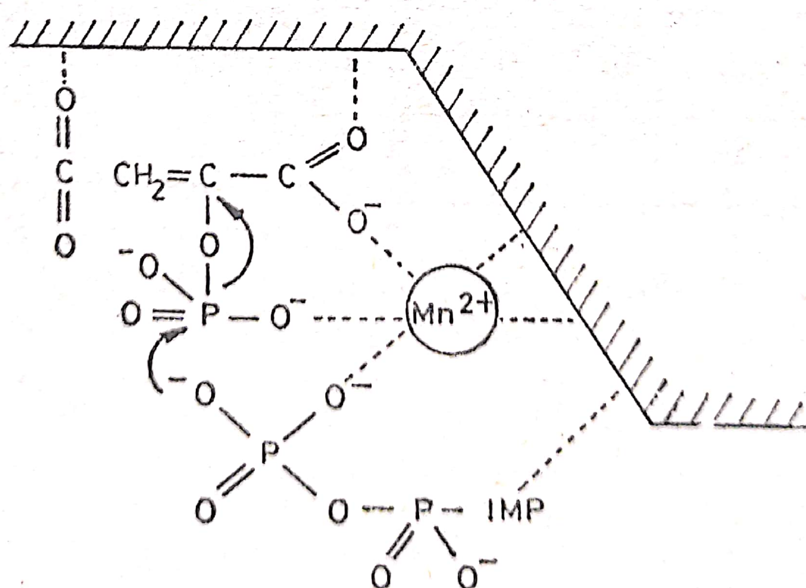


Fig. 9.VII. Legarea substratelor şi a ionului metalic la molecula fosfoenolpiruvatcarboxikinazei (PEPCK).

din studiul timpului de relaxare a protonului apei sau schimbul $H_2{}^{18}O$ cu ^{18}O din produșii de reacție. Schema alăturată nu epuizează toate posibilitățile de interpretare mai ales dacă avem în vedere că diferitele forme de PEPCK pot prezenta alte secvențe de interacțiune cu substratele. Astfel la E. coli este probabil ca primul substrat care se leagă la PEPCK să fie nucleotidul.

9.4. ENZIME ȘI PROTEINE CU FIER HEMINIC

Trecerea în revistă sumară a acestor clase de proteine și enzime este extrem de dificilă în virtutea numărului mare de cunoștințe acumulate. Nu este exagerat să afirmăm că hemoglobina este cea mai studiată și în consecință cea mai binecunoscută proteină, servind ca model de studiu în egală măsură chimiei proteinelor, bioanorganicii, cineticii etc. Deoarece o tratare exhaustivă nu-și are locul, iar una sumară prezintă inconvenientul de a avea fie un caracter elementar fie o descriere eliptică, considerăm necesar să atragem atenția asupra unui număr de monografii și referate de interes deosebit apărute în ultimii ani [31—40].

Hemoproteinele care îndeplinesc funcția de transportori de oxigen (hemoglobina în sînge, mioglobina în țesuturi) sau transportori de electroni (citocromii) au ca element comun nucleul protoporfirinic, (vezi fig. 10.XIV). Porfirinele sînt molecule puternic conjugate fapt demonstrat și prin spectrul electronic marcat de prezența a trei benzi, cea mai intensă fiind în jurul lungimii de undă de 400 nm (banda Soret sau γ). Celelalte două benzi mai slabe în intensitate sînt situate între 500 și 600 nm. Cei doi atomi de hidrogen legați de azotul nucleului porfirinic se înlocuiesc ușor printr-un ion metalic în speță fierul. În nucleul heminic, metalul este tetracoordinat prezentînd simetrie plan pătratică. În metaloporfirine ionul metalic poate fi pentacoordinat (simetrie de piramidă pătratică) sau hexacoordinat (geometrie octaedrică). Deși molecula porfirinei poate fi considerată planară, atomii de azot ai celor patru nuclee sînt ușor deplasați deasupra și dedesubtul planului moleculei. Pe de altă parte rigiditatea moleculei, presupusă din caracterul ei puternic conjugat, este supusă unui anumit grad de deformare, datorită prezenței substituenților voluminoși. În citocromul *c*, structura componentei heminice este mult asemănătoare cu cea descrisă pentru hemoglobine și mioglobine, singura diferență

fiind marcată de prezența resturilor etil din pozițiile 2 și 4 în locul resturilor vinil (vezi fig. 10.XIV). Deși substituenții nucleului tetrapirolic prezintă importanță mare în proprietățile moleculei incluzînd în aceasta mai ales potențialul de oxidoreducere, rolul componentei proteice, prin natura legăturilor cu nucleul porfirinic este acela de a dicta proprietățile biologice propriu-zise. Astfel, în timp ce hemoglobina și mioglobina funcționează ca transportori de oxigen, păstrînd valența Fe(II) constantă prin legarea oxigenului, catalazele funcționează ca enzime de oxidoreducere păstrînd valența Fe(II) de asemenea constantă în tot procesul catalitic, iar citocromii, cu funcția de transportori de electroni, au valența fierului variabilă. Semnificația interacțiunilor hem proteină va fi discutată pentru cîteva cazuri particulare.

9.4.1. Citocromul c

Este o proteină transportoare de electroni, situată în mitocondriile tuturor organismelor aerobe, fiind localizată în porțiunea terminală a lanțului respirator. În realitate, nu este vorba de o proteină unică, ci de o clasă, avînd ca grupare prostetică protoporfirina IX (41—44) legată covalent la un lanț polipeptidic printr-o legătură tioeterică. Această legătură se constituie între restul etil al nucleului heminic și grupările SH ale cisteinei din lanțul polipeptidic. Clasa citocromilor c poate fi divizată în mai multe subclase cu proprietăți destul de diferite. Astfel, în timp ce citocromul c mitocondrial este o proteină ce păstrează practic nemodificate proprietățile provenite de la primele eucariote, alți citocromi, aparținînd aceluiași grup de proteine cu potențial redox ridicat și cu origine comună suferă un proces de diversificare în cursul evoluției. În acest ultim grup încadrăm citocromul c_2 al bacteriilor fotosintetice, citocromul c_{550} al bacteriilor denitrificante, citocromul c_{551} de la Pseudomonas, citocromul c_{555} de la Chlorobium etc. Studiile cristalografice la înaltă rezoluție (2 Å), coroborate cu datele de structură primară, arată că proteinele care aparțin grupului citocromului c se caracterizează prin existența unui lanț polipeptidic unic format din 85—135 aminoacizi, avînd un singur nucleu heminic; liganzii axiali pe atomul de fier sînt întotdeauna aceiași (metionina și histidina). În sfîrșit, potențialul redox al citocromilor c este înalt, cuprins între +150 și 380 mV.

Citocromul c izolat din miocardul de cal are 104 aminoacizi. Ca și caracteristică principală a componentei proteice este con-

ţinutul mare în lizină (19 resturi), existenţa a două resturi de arginină şi numai 12 resturi acide reprezentate de acidul glutamic şi aspartic. Cele două resturi de arginină şi 5 resturi de lizină ocupă aceeaşi poziţie în toţi citocromii c. Conţinutul mare în aminoacizi bazici conferă citocromului c o valoare mare a pH_i [10]. O altă trăsătură comună citocromilor c este orientarea resturilor hidrofile spre exterior şi a celor hidrofobe spre interior, avînd în vedere că pentru exercitarea rolului biologic, nucleul heminic reclamă o „învelire" cu resturi apolare (fig. 9.VIII). Fierul central hexacoordinat este fixat prin 4 legături de nucleul porfirinic, o legătură prin intermediul atomului de azot al His 18 şi, în sfîrşit, prin Met 80.

Dintre aminoacizii, întîlniţi constant în toate tipurile de citocromi c, pe lîngă cei menţionaţi mai sus, merită reţinuţi cei cuprinşi între 70 şi 80 ai lanţului polipeptidic precum şi o

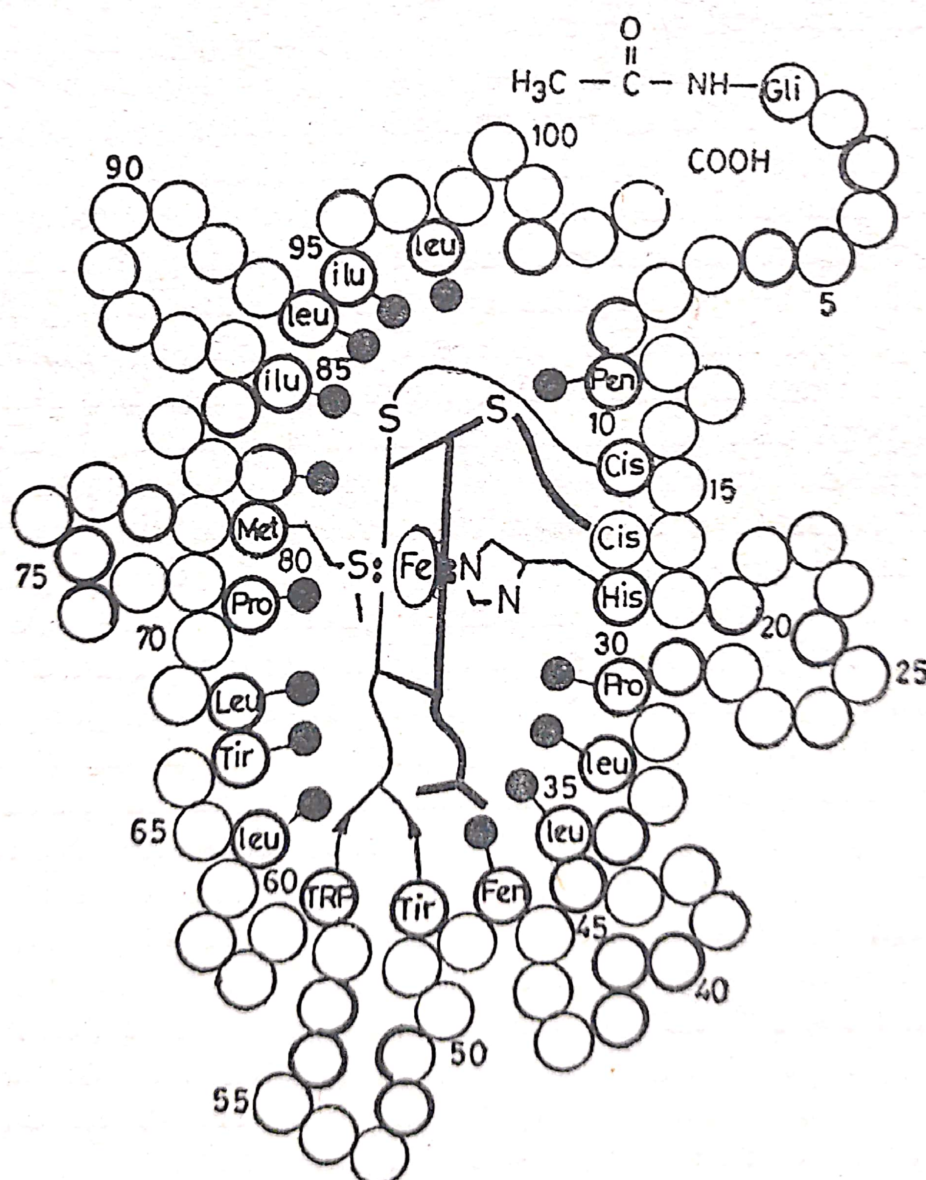


Fig. 9.VIII. Structura tridimensională simplificată a citocromului c de cal. Explicaţiile sînt în text.

serie de resturi aromatice. Revenind la His 18, care coordinează fierul heminic prin intermediul atomului de azot ε, merită de menționat faptul că atomul de azot δ formează o legătură de hidrogen cu oxigenul carbonilic al Pro 30. În felul acesta, nucleul imidazolic este fixat într-o poziție rigidă față de hem. Invers și hemul ocupă o poziție rigidă la care contribuie pe lîngă His 18 și alte legături. Astfel, în timp ce unul din resturile de acid propionic ale hemului este orientat spre exterior, celălalt este îndreptat spre interiorul moleculei; ambii sînt angajați în legături de hidrogen la care participă OH de la Tir 48 și respectiv NH al Trp 59.

Față de acest „etalon", care este citocromul c din miocardul de cal, studii similare de structură primară și tridimensională pe alte tipuri de citocromi indică mari similitudini în ciuda lungimii diferite a lanțului polipeptidic.

O serie de argumente indirecte pledează pentru faptul că, prin oxidare, forma redusă a citocromului c de cal suferă modificări conformaționale marcate. Astfel, forma redusă este mai puțin susceptibilă la digestie triptică, este mai rezistentă la denaturare termică decît forma oxidată ceea ce traduce o structură mai compactă pentru prima. Pe de altă parte, spectrul RMN ca și ionizarea restului tirozinic diferă la cele două forme ale citocromului c. Pe baza acestor date de structură Dickerson și colab. [41] au propus mecanismul de transfer al electronilor de la reductaza acestuia spre oxidaza corespunzătoare. Conform acestui mecanism se presupune că reducerea hemului citocromului c are loc printr-o succesiune de transferuri de radicali liberi ce cuprind Tir 74 (localizată spre exterior) spre Tir 67 și/sau Trp 59, localizate spre interior în vecinătatea hemului. Oxidarea acestuia are loc tot printr-un mecanism radicalic ce reclamă participarea a două resturi aromatice (Fen 10 și Tir 97). În sprijinul acestui mecanism pledează marea constanță a aminoacizilor menționați la un număr de 50 specii de citocromi c. O altă concluzie care se desprinde din mecanismul menționat este că citocromul c joacă rolul unei molecule cu orientare „statică" ce servește ca și conductor direct de electroni între reductaza și oxidaza sa. Mecanismul de mai sus este favorizat și de legăturile slabe stabilite între citocromul c (denumit de aceea componentă „mobilă") și sistemele membranare. Datorită acestui fapt, citocromul c poate executa deplasări libere pe suprafața membranei prin care să vină în contact alternativ cu sistemele sale de reducere și respectiv de oxidare. Dintre resturile de aminoacizi implicate în reacția citocromului c cu citocromoxidaza (vezi și 9.4.4.), un rol important este jucat

de lizine. Blocarea funcției ε aminice a Lis 13 duce la scăderea cu 50% a capacității de interacțiune a citocromului c cu citocromoxidaza. Înlocuirea acestui aminoacid cu arginina sau tratarea cu reactivi ce nu modifică însă bazicitatea funcției aminice libere nu mai afectează interacțiunea citocromului c cu citocromoxidaza.

Un mecanism diferit de cel prin lanț radicalic, descris mai sus pentru citocromul c de cal, este sugerat prima oară pentru citocromul c_2 de la R. rubrum. În acest din urmă caz, se presupune că oxidoreducerea reversibilă a fierului heminic este rezultatul interacțiunii directe între hemul citocromului c_2 și grupările prostetice ale reductazei, respectiv oxidazei. Astfel, prin difracție cu raze X la o rezoluție de 2 Å s-a arătat că în forma oxidată a citocromului c_2, atomul de sulf al metioninei 91 (ce corespunde la metionina 80 a citocromului c de cal) care coordinează fierul heminic, este deplasat spre Tir 70. Această deplasare se interpretează ca fiind datorată existenței unei interacțiuni, cu caracter parțial ionic, între oxigenul hidroxilic al Tir 70 (posedînd o sarcină parțial negativă) și atomul de sulf al Met 91, cu o sarcină parțial pozitivă delocalizată de Fe(III) al hemului oxidat.

9.4.2. Mioglobina

Este o proteină cu rol transportor de oxigen, izolată din țesutul muscular. Are greutatea moleculară 17.000, alcătuită dintr-un nucleu heminic și un lanț polipeptidic format din 153 aminoacizi, numit și lanț *m*. Dimensiunile relativ mici ale moleculei au permis studii amănunțite de structură primară și tridimensională la un mare număr de specii. Dealtfel, mioglobina este prima proteină a cărei structură tridimensională a fost elucidată prin difracție cu raze X. Lanțul polipeptidic al mioglobinei are un grad mare de ordonare (2/3 sub formă de α-helix), zonele helicoidale, în număr de 8, fiind separate prin 7 zone, aparent lipsite de structură ordonată, și care poartă numele de bucle. Zonele helicoidale se notează pornind de la capătul N-terminal cu literele alfabetului de la A—H, în timp ce zonele de buclă se notează cu literele zonelor helicoidale învecinate, AB, CD etc. Din acest motiv, poziția aminoacizilor în lanțul *m* poate fi indicată în două moduri: unul obișnuit oricărei proteine, indicînd numărul de ordine dinspre capătul N-terminal, și un altul care indică poziția aminoacidului în fiecare zonă helicoidală sau de buclă. În tabelul 9.6 este dată secvența com-

TABELUL 9.6

Secvența completă a mioglobinei umane, cu numerotarea secvențială sau helicoidală. Zonele de contact cu nucleul heminic sînt notate cu un punct

NA1 1 Gli	NA2 2 Leu	A1 3 Ser	A2 4 Asp	A3 5 Gli	A4 6 Glu	A5 7 Trp	A6 8 Gln	A7 9 Leu	A8 10 Val	A9 11 Leu	A10 12 Asn	A11 13 Val	A12 14 Trp	A13 15 Gli	A14 16 Lis	A15 17 Val
A16 18 Glu	AB1 19 Ala	B1 20 Asp	B2 21 Ile	B3 22 Pro	B4 23 Gli	B5 24 His	B6 25 Gli	B7 26 Gln	B8 27 Glu	B9 28 Val	B10 29 Leu	B11 30 Ile	B12 31 Arg	B13 32 ● Leu	B14 33 Fen	B15 34 Lis
B16 35 Gli	C1 36 His	C2 37 Pro	C3 38 Glu	C4 39 ● Tre	C5 40 Leu	C6 41 Glu	C7 42 ● Lis	CD1 43 ● Fen	CD2 44 Asp	CD3 45 ● Lis	CD4 46 ● Fen	CD5 47 Lis	CD6 48 His	CD7 49 Leu	CD8 50 Lis	D1 51 Ser
D2 52 Glu	D3 53 Asp	D4 54 Glu	D5 55 Met	D6 56 Lis	D7 57 Ala	E1 58 Ser	E2 59 Glu	E3 60 Asp	E4 61 Leu	E5 62 Lis	E6 63 Lis	E7 64 ● His	E8 65 Gli	E9 66 Ala	E10 67 ● Tre	E11 68 ● Val
E12 69 Leu	E13 70 Tre	E14 71 ● Ala	E15 72 ● Leu	E16 73 Gli	E17 74 Gli	E18 75 Ile	E19 76 Leu	E20 77 Lis	EF1 78 Lis	EF2 79 Lis	EF3 80 Gli	EF4 81 His	EF5 82 His	EF6 83 Glu	EF7 84 Ala	EF8 85 Glu
F1 86 Ile	F2 87 Lis	F3 88 Pro	F4 89 ● Leu	F5 90 Ala	F6 91 Gln	F7 92 ● Ser	F8 93 ● His	F9 94 Ala	FG1 95 Tre	FG2 96 Lis	FG3 97 ● His	FG4 98 Lis	FG5 99 ● Ile	G1 100 Pro	G2 101 Val	G3 102 Lis
G4 ● 103 Tir	G5 ● 104 Leu	G6 105 Glu	G7 106 Fen	G8 ● 107 Ile	G9 108 Ser	G10 109 Glu	G11 110 Cis	G12 111 Ile	G13 112 Ile	G14 113 Gln	G15 114 Val	G16 115 Leu	G17 116 Gln	G18 117 Ser	G19 118 Lis	GH1 119 His
GH2 120 Pro	GH3 121 Gli	GH4 122 Asp	GH5 123 Fen	H1 124 Gli	H2 125 Ala	H3 126 Asp	H4 127 Ala	H5 128 Gln	H6 129 Gli	H7 130 Ala	H8 131 Met	H9 132 Asn	H10 133 Lis	H11 134 Ala	H12 135 ● Leu	H13 136 Glu
H14 137 Leu	H15 138 ● Gen	H16 139 Arg	H17 140 Lis	H18 141 Asp	H19 142 ● Met	H20 143 Ala	H21 144 Ser	H22 145 Asn	H23 146 Tir	H24 147 Lis	H25 148 Glu	H26 149 Leu	HC1 150 Gli	HC2 151 Fen	HC3 152 Gln	HC4 153 Gli

pletă a mioglobinei umane în cele două notații. Se vede că Gli 15, este aminoacidul în poziția 13 a zonei helicoidale A, His 97 este al treilea aminoacid din zona de buclă FG ș.a.m.d.

Spre deosebire de citocromul c, hemul nu se leagă de lanțul *m* prin legături covalente, ci este plasat într-o zonă tapetată de resturi hidrofobe care constituie „buzunarul" hemului. „Buzunarul" hemului este constituit în mare măsură de aminoacizii regiunilor C, CD și FG. Orientarea spațială a lanțului polipeptidic al mioglobinei este arătată în fig. 9.IX. Forma moleculei este de elipsoid cu dimensiunile de 42/35/25 Å. Mioglobina leagă în mod reversibil oxigenul molecular, oxidul de carbon sau ionii de cianură. Ultimele exercită un efect toxic puternic datorită unei mari afinități pentru proteină. Ceea ce este caracteristic mioglobinei este faptul că prin legarea oxigenului, valența ionului de fier rămîne constantă, Fe(II). Mai mult decît atît, oxidarea Fe(II) la Fe(III) duce la pierderea proprietăților biologice, specia rezultată purtînd numele de metmioglobină (MetMb). În forma deoxigenată a mioglobinei (Mb), ionul de fier este pentacoordinat, stabilind legături cu cei patru

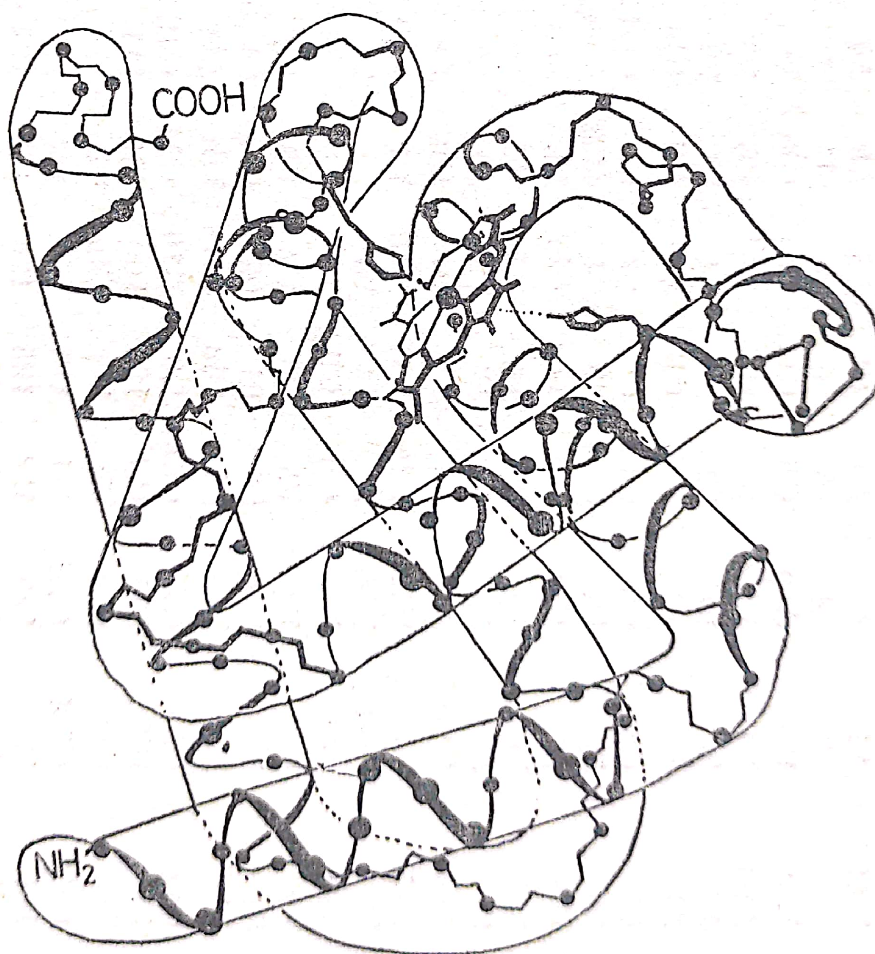


Fig. 9.IX. Structura tridimensională a mioglobinei din datele cristalografice ale lui Kendrew. Porțiunile spiralate reprezintă zonele ordonate în α-helix.

atomi de azot ai nucleului pirolic, respectiv cu un atom de azot al His 93 (sau conform notației utilizate curent His F8) (Fig. 9.X). În Mb, fierul este deplasat ușor în afara hemului, în urma legăturii cu His F8. Prin oxigenare rezultă oximioglobina (MbO_2), în care fierul este hexacoordinat și deplasat cu aproximativ 0.75 Å spre planul hemului.

Curba de disociere a oximioglobinei, care este hiperbolică, corespunde echilibrului $Mb + O_2 \rightleftharpoons MbO_2$. Marea afinitate a mioglobinei pentru oxigen (de aproximativ 10 ori mai mare decît hemoglobina) este justificată de funcția sa ca transportor de oxigen în țesut, unde concentrația oxigenului molecular este mică.

În sfîrșit, mai merită menționat faptul că protecția Fe(II) de acțiunea oxidantă a O_2 sau a altor agenți este asigurată de His 64 (sau His E7). În general, resturile hidrofobe care asigură împachetarea compactă a hemului, limitînd dimensiunile liganzilor posibili, se găsesc cu mare constanță la toate speciile investigate. Astfel la 11 specii de mioglobine investigate, din cei 33 aminoacizi orientați spre interiorul lanțului polipeptidic numai 4 prezintă diferențe și doar unul singur din cei în contact direct cu nucleul heminic este variabil.

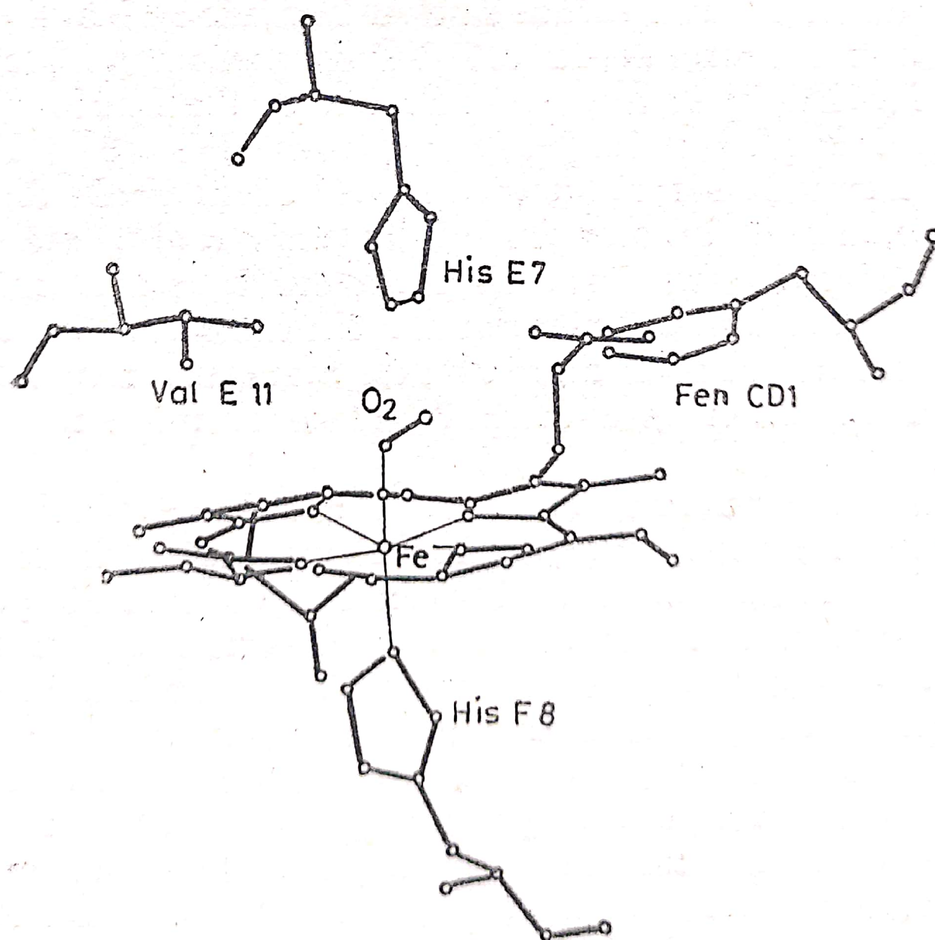


Fig. 9.X. Interacțiunile nucleului heminic al mioglobinei cu componenta proteică.

9.4.3. Hemoglobina

Are greutatea moleculară 64.500, fiind alcătuită din 4 unități polipeptidice, două cîte două diferite, și din 4 nuclee heminice. Hemoglobina adultului (HbA) este constituită din 2 lanțuri α (141 aminoacizi) și două lanțuri β (146 aminoacizi), deci un total de 574 aminoacizi. Aminoacizii terminali ai lanțului α sînt valina (N-terminal) și arginina (C-terminal), pentru lanțul β valina (N-terminal) și histidina (C-terminal). Sîngele noului născut conține în proporții aproximative egale HbA și așa-numita hemoglobină fetală (HbF), alcătuită din 2 lanțuri α și două lanțuri γ. Lanțurile γ au tot 146 aminoacizi, glicocolul fiind aminoacidul N-terminal și histidina aminoacidul C-terminal. La 6 luni după naștere, practic întreaga cantitate de HbF este înlocuită cu HbA. În afara HbA și HbF mai sînt cunoscute HbA_2 (hemoglobina minoră a adultului), formată din 2 lanțuri α și 2 lanțuri δ și HbE (hemoglobina embrionară), formată din 2 lanțuri α și 2 lanțuri ε. HbE precede în ontogenie HbF care, la rîndul ei, este înlocuită de HbA și într-o mai mică proporție de HbA_2.

Ionul de Fe(II) al fiecărui nucleu heminic se leagă de protoporfirină în mod similar cu cel descris pentru mioglobină. Pe de altă parte, Fe(II) se leagă coordinativ de 2 resturi de histidină (His 58 și His 87 din lanțul α, respectiv His 63 și His 92 în lanțul β). Demn de semnalat este faptul că în ciuda diferențelor privind numărul de aminoacizi din lanțurile α și β față de lanțul *m* al mioglobinei, structura tridimensională este asemănătoare, semnificația histidinelor menționate fiind aceeași cu a His 64 și His 93 din lanțul *m* al mioglobinei. Structura moleculei tetramer a hemoglobinei este arătată într-o formă simplificată în fig. 9.XI.

Menținerea structurii cuaternare a hemoglobinei este asigurată printr-o serie de interacțiuni electrostatice între lanțurile polipeptidice. Astfel, capătul N-terminal cu sarcină pozitivă a lanțului α este în contact cu capătul C-terminal avînd sarcină negativă a celuilalt lanț α. În mod similar există interacțiuni între subunitățile β, respectiv între subunitățile α și β. Spre deosebire de mioglobină, la care legarea oxigenului nu antrenează modificări conformaționale profunde, în cazul hemoglobinei, legarea succesivă a 4 molecule de oxigen se trădează prin modificări importante, caracteristice proteinelor alosterice. Azi avem o imagine destul de clară asupra succesiunii modificărilor conformaționale care acompaniază legarea oxigenului la hemoglobină. Înainte de discutarea acestor elemente se cuvine să mai amintim

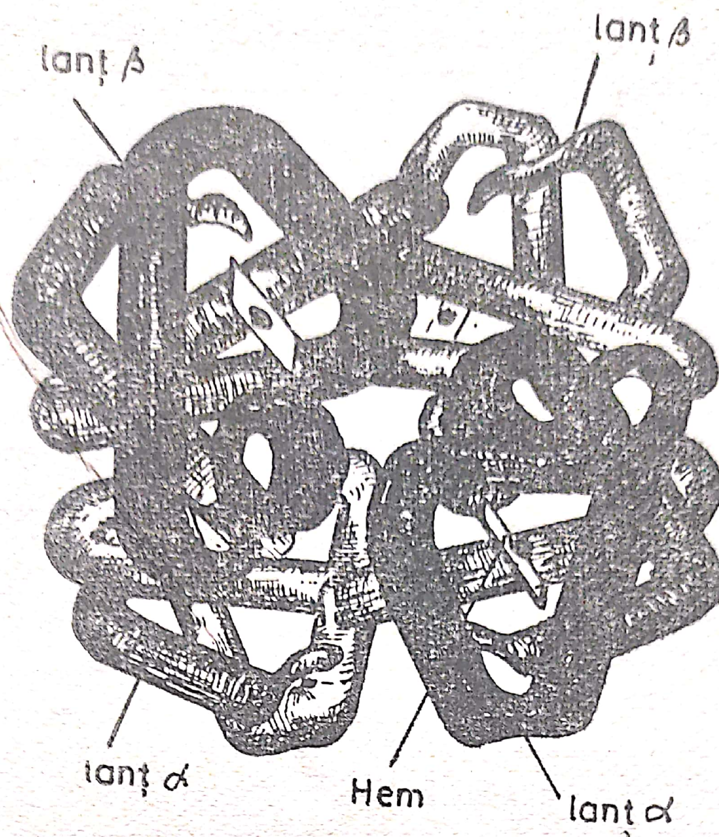


Fig. 9.XI. Organizarea spațială a moleculei tetramer a hemoglobinei.

cîteva caracteristici ale procesului de oxigenare a hemoglobinei. Curba de disociere a hemoglobinei este sigmoidă, așa cum se vede și în fig. 9.XII, spre deosebire de curba de disociere a mioglobinei care este hiperbolică. O serie de factori fizici și chimici influențează curba de disociere a hemoglobinei.

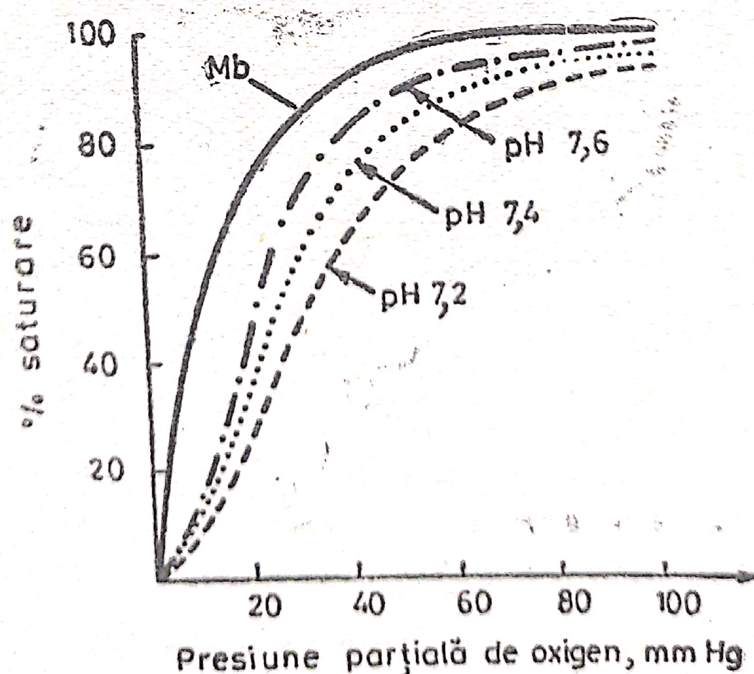


Fig. 9.XII. Curba de disociere a mioglobinei și hemoglobinei.

Dintre aceştia, semnificaţie biologică majoră prezintă pH şi esterii fosfatici organici. Prin scăderea pH, afinitatea hemoglobinei pentru oxigen scade, prin creşterea pH, afinitatea pigmentului pentru oxigen creşte. Efectul pH asupra curbei de disociere (neîntîlnit în cazul mioglobinei) poartă numele de efect Bohr. Dintre esterii organici fosfatici, acidul 2,3 difosfogliceric (DPG) joacă rolul cel mai important fiind dealtfel în concentraţii mari în hematie (10 mM). DPG scade afinitatea hemoglobinei pentru oxigen. Dacă procesul de cooperativitate a celor 4 subunităţi care alcătuiesc molecula hemoglobinei a fost descris de multă vreme mai ales din date cinetice sau de echilibru, succesiunea evenimentelor este cunoscută mai recent. Prima observaţie care să certifice modificările conformaţionale ale hemoglobinei prin legarea reversibilă a oxigenului molecular aparţine lui Perutz, care a demonstrat că distanţa dintre Fe(II) a grupărilor heminice din subunităţile β scade cu 6,5 Å. Prima subunitate care reacţionează cu oxigenul este subunitatea α_1. Prin fixarea O_2 la Fe(II) acesta intră în planul hemului, întocmai ca în cazul mioglobinei, trăgînd după sine His F8 şi cu aceasta întreaga zonă helicoidală F. Această deplasare a helixului F duce la ruperea unei legături de hidrogen, ce permite deplasarea întregii secvenţe C-terminale. În felul acesta se rup legăturile electrostatice ce menţin unite între ele subunităţile α. Ruperea acestor legături facilitează oxigenarea celei de a doua subunităţi, care este α_2, urmează apoi β_1 şi β_2. Efectul Bohr nu este altceva decît rezultatul modificărilor în constanta de ionizare a grupărilor care formează legături electrostatice în forma deoxigenată a hemoglobinei.

Afinitatea mare a DPG pentru forma deoxigenată a hemoglobinei se explică prin intercalarea esterului între subunităţile β, cu formarea a 4 legături electrostatice cu grupările cationice din lanţurile β. Prin oxigenare, ruperea legăturilor electrostatice descrisă mai sus atrage după sine scăderea capacităţii de legare a DPG la hemoglobină. Oricît de sumară ar fi prezentarea acestui proces, el reprezintă o confirmare strălucită a unei teorii mult mai generale asupra proteinelor alcătuite din subunităţi care interacţionează între ele, teoria alosteriei (Monod, Wyman şi Changeux). Pe de altă parte, au devenit explicabile tulburările în funcţia transportoare de oxigen a hemoglobinei într-o serie de variante patologice de hemoglobină, în care se pierde cooperativitatea între subunităţi, scade afinitatea pentru oxigen sau creşte capacitatea de autooxidare a Fe(II) la Fe(III), cu formarea methemoglobinei.

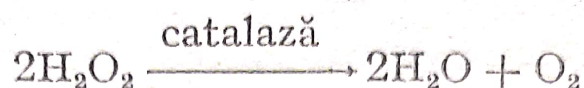
9.4.4. Citocromoxidaza

Este enzima terminală a lanțului respirator care conține două tipuri de citocrom a și care interacționează cu oxigenul molecular, transferînd electronii de pe citocromul c pe oxigenul molecular [46]. Specia care interacționează cu oxigenul este citocromul a_3, care de asemenea interacționează și cu oxidul de carbon. Citocromoxidaza conține un mol de cupru pe unitate heminică cu alte cuvinte 2 moli/moleculă din care numai 40% dă un semnal RES detectabil. Există numeroase dezacorduri privind starea redox a cuprului în molecula citocromoxidazei. Deoarece prin denaturarea citocromoxidazei întregul conținut de cupru este capabil de semnal RES, este posibil ca forma lipsită de semnal să fie prezentă în moleculă ca și Cu(II)—Cu(II). Banda de absorbție a citocromoxidazei la 830 nm este probabil asociată atomului de cupru. Modificările de absorbție la această lungime de undă în timpul titrării anaerobe a enzimei cu NADH și fenazinmetosulfat ca intermediar demonstrează faptul că Cu(II) acționează ca un acceptor de electroni. Studii de cinetică rapidă (stop flow) arată faptul că modificările stării redox ale cuprului în citocromoxidază decurg cu aceeași viteză cu cele din componenta heminică [47]. Potențialul redox al citocromilor a și a_3 determinat polarografic, folosind tetrametil-para-fenilen-diamină ca intermediar, indică un potențial de semisaturare de 190 mV pentru citocromul a, independent de conținutul energetic al mitocondriilor. Pe de altă parte potențialul de semisaturare al citocromului a_3 depinde de starea energetică, descrescînd de la 395 mV în absența ATP la 300 mV în prezența acestuia [48]. Aceste din urmă observații permit să se sugereze faptul că fenomenul de conversiune a energiei lanțului respirator în ATP la nivelul citocromoxidazei are loc fie între citocromul a—a_3 fie între citocromul a_3 și oxigen, în ambele cazuri participarea directă la mecanismul de cuplare energetică aparținînd componentei heminice. Wilson și Brocklehurst au găsit recent că efectul ATP-ului asupra proprietăților spectrale ale citocromului a_3 sînt stoechiometrice, în sensul că, pentru fiecare moleculă de citocrom a_3 modificată are loc hidroliza unei molecule de ATP [49].

9.4.5. Catalaza

Este o proteină cu greutate moleculară 240.000, formată din patru unități heminice și patru lanțuri polipeptidice, fiecare din aproximativ 500 aminoacizi. Enzima catalizează descom-

punerea apei oxigenate conform reacției:



$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalază}} 2H_2O + O_2$$

În prezența unor concentrații joase de H_2O_2 (sub 10^{-6}M) și a unor donori de oxigen, enzima acționează ca peroxidază: $RCH_2OH + H_2O_2 \rightarrow R{-}CHO + 2H_2O$. Enzima este larg răspîndită în diferite specii și țesuturi. Cel mai concentrat țesut este ficatul (localizarea enzimei este în peroxizomi) și eritrocitele [50].

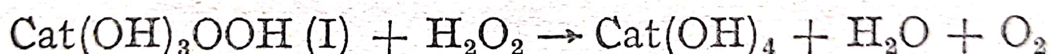
În ciuda numeroaselor cunoștințe asupra structurii și funcției catalazei cele mai multe necunoscute privesc funcția enzimei, deși aprioric putem să atribuim acestei enzime rolul de a proteja celula față de apa oxigenată, generată de anumite enzime în special flavinice.

În țesuturi, activitatea enzimei este de natură peroxidazică, fiind cuplată cu enzimele producătoare de apă oxigenată, ca uricaza, d-aminoacidoxidaza și monoaminoxidaza. În hematie, enzima are rolul de a proteja hemoglobina de acțiunea oxidantă a apei oxigenate, a unor medicamente producătoare de peroxizi sau a radicalilor liberi formați prin iradiere cu raze X. Un fapt interesant de remarcat este distribuția variabilă a catalazei în eritrocitele de la diferite specii; la extreme se află eritrocitul uman și eritrocitul de rață (cu un conținut de 100 ori mai mic al enzimei decît în primul caz).

Mecanismul de acțiune al catalazei este atipic, urmînd reacțiile succesive menționate mai jos:



$$Cat(OH)_4 + H_2O_2 \rightleftharpoons Cat(OH)_3OOH(I) + H_2O$$



$$Cat(OH)_3OOH\ (I) + H_2O_2 \rightarrow Cat(OH)_4 + H_2O + O_2$$



$$Cat(OH)_3OOH\ (I) + C_2H_5OH \rightarrow Cat(OH)_4 + CH_3CHO + H_2O$$



$$Cat(OH)_3OOH\ \ (I) \rightarrow Cat(OH)_3OOH\ \ (II)$$

Reacția este demarată prin combinarea moleculei de catalază cu o moleculă de apă oxigenată, formîndu-se în felul acesta complexul primar enzimă-substrat (compusul I). Acest compus reacționează în continuare cu un donor de hidrogen, formîndu-se complexul ternar. Bivalența funcțională a enzimei de tip catalazic sau peroxidazic este rezultatul competiției între diferiții donori de hidrogen (incluzînd și H_2O_2) pentru compusul I. Astfel, la concentrații mari de H_2O_2 aceasta acționează atît ca substrat pentru formarea complexului I cît și ca donor de

hidrogen. La concentrații mici de H_2O_2, este folosită exclusiv pentru formarea compusului I. La concentrații mari de H_2O_2 are loc o inactivare rapidă a enzimei, prin transformarea în compusul II. Acest lucru are o consecință practică importantă prin aceea că în determinarea activității enzimei, concentrația de H_2O_2 și durata incubării joacă un rol extrem de important.

Mecanismul participării componentei metalice în acțiunea catalazei este controversat. După unii autori este puțin probabil să aibă loc printr-un ciclu de transformări a Fe(II) la Fe(III). În orice caz, compusul I poate fi reprezentat ca $[FeOOH]^{2+}$ un complex peroxidic al Fe(III). Formarea compusului I are loc cu schimbarea susceptibilității magnetice corespunzătoare descreșterii electronilor neîmperecheați de la 5 la 3.

9.4.6. Peroxidazele

Au de asemenea structură heminică sau în unele cazuri flavinică. Una dintre cele mai cunoscute enzime este peroxidaza din hrean, proteină cu un potențial redox coborît (—170 mV) și care, din punct de vedere spectroscopic, se aseamănă cu mioglobina. În prezența H_2O_2, peroxidaza formează un compus denumit compusul I, de culoare verde, în care Fe heminic este Fe(III).

Printr-o descompunere lentă a acestui produs, în absența substratului, apare un compus roșu (compusul II). Din spectroscopia Mössbauer rezultă că, în ambele cazuri, Fe este sub formă de Fe(IV), deși ar trebui adăugat faptul că, în compuși de asemenea factură, este dificil de stabilit gradul formal de oxidare a metalului, deoarece prezența echivalenților oxidanți poate fi asociată și cu alte grupe. Complexul I al peroxidazei este particular și din punct de vedere spectroscopic, ceea ce complică interpretarea stării de valență a Fe în complexul enzimă-substrat. Toate aceste fapte au determinat elaborarea unor modele neenzimatice care să explice mecanismul de acțiune al celor două enzime. Se știe că atît complecșii fierului cît și ai cuprului catalizează descompunerea apei oxigenate. Acești complecși vor acționa doar în cazul în care posedă centrii donori disponibili pentru coordinarea H_2O_2 sau HO_2^-, astfel încît cataliza să aibă loc în interiorul sferei de coordinare a metalului în care metalul mediază transferuri electronice de la gruparea oxidabilă la peroxid.

9.5. FLAVOPROTEINE

Sînt enzime care conțin ca grupare prostetică FAD sau FMN. Participarea lor în metabolismul oxidativ poate fi rezumată la trei domenii mai importante.

1) Dehidrogenarea unor substrate ca aminoacizii în prezența oxigenului molecular.

2) Dehidrogenarea în prezența citocromilor ca acceptori a unor substrate ca NADH, succinat, alfa-glicerofosfat, colină, acil-CoA etc.

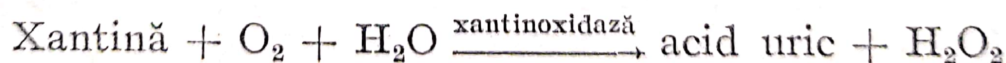
3) Dehidrogenarea unor substrate cu potențial redox coborît ca acidul dihidrolipoic, dihidroorotic.

Flavinenzimele, din a doua categorie, conțin de foarte multe ori metale în structura lor, motiv pentru care se numesc metaloflavinenzime. Cel mai frecvent metal asociat acestor enzime, cu funcție în procesul de transfer electronic, este molibdenul.

Aceste metaloflavinenzime, descoperite în 1954, deși studiate intens, prezintă dezavantajul apartenenței unor structuri celulare complexe. Solubilizarea enzimelor din aceste structuri prin procedee enzimatice, fizice sau chimice poate schimba profund proprietățile enzimei native. Un model mai promițător de asemenea metaloflavinenzime este xantindehidrogenaza, care este mai puțin legată de structuri subcelulare pentru a forma unități funcționale complexe, cum este cazul NADH-dehidrogenazei sau succinatdehidrogenazei.

Xantinoxidaza (și în măsură egală aldehidoxidaza, cu structură asemănătoare) conține 2 atomi de Mo și două molecule de FAD pe molecula de enzimă (greutatea moleculară ~ 300.000). De remarcat că aceste enzime conțin și fier neheminic în structura loc, motiv pentru care metodele RES sînt, ca și în cazul feroproteinelor neheminice, de importanță capitală [51, 52].

Reacția catalizată de xantinoxidază poate fi rezumată astfel:



$$\text{Xantină} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{xantinoxidază}} \text{acid uric} + H_2O_2$$

Din studii cinetice coroborate cu date RES și cu spectrele de absorbție, secvența transferului de electroni de la xantină la oxigen ar putea fi scrisă astfel:



$$\text{Xantină} \rightarrow Mo^{6+} \rightarrow \text{FADH} \rightarrow \text{Fe neheminic} \rightarrow O$$

Este dovedit faptul că produșii intermediari ai acestei reacții sînt Mo^{5+} și semichinona flavinei, legată la proteină.

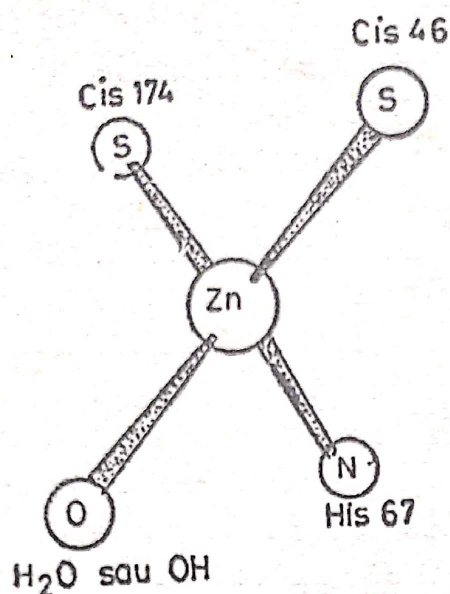
Un alt fapt demn de semnalat este că semnalul RES corespunde la maximum 1/3 din conținutul în molibden al enzimei, măsurat prin mijloace chimice. Acest lucru ar permite presupunerea că Mo^{5+} fie nu este un component principal al reacției enzimatice, fie că se realizează un echilibru al unei forme dimerice Mo^{5+}, echilibrul reflectat și în proprietățile dia-paramagnetice. Spectrul de absorbție în vizibil cu o bandă avînd maximul la 580 nm constituie un argument în formarea unui complex cromofor MoS, fapt demonstrat și prin aceea că, complecșii cisteinei sau glutationului cu Mo(V) prezintă benzi de absorbție similare. În afirșit, în xantinoxidază Mo poate fi înlocuit cu No, La, și Tu. În cazul primelor două specii reacțiile nu au loc, dar se formează complecșii stabili ale metalului cu celelalte componente extrem de utile studiilor de structură.

9.6. DEHIDROGENAZE PIRIDINICE

Multe dehidrogenaze piridinice conțin în structura lor Zn(II) care participă în mecanismul catalitic fără schimbarea stării de valență. Au fost propuse mai multe scheme care să sugereze rolul Zn(II) ca puncte de coordinare a NADH-ului respectiv a acetaldehidei. Studiile structurale privind alcooldehidrogenaza din ficatul de cal, pentru care cunoaștem atît structura primară cît și structura tridimensională prin difracție cu raze X la o rezoluție de 2,4 Å permit stabilirea legăturii Zn(II) cu aminoacizii din componenta polipeptidică [53].

Enzima cu o greutate moleculară de 80.000 este un dimer alcătuit din subunități identice. Fiecare subunitate leagă puternic doi ioni Zn(II) și posedă un singur centru de legare (a NAD sau NADH). Din cei 2 ioni de Zn(II) unul singur îndeplinește funcții catalitice [54, 55]. Poziția celor 2 ioni de Zn(II) este redată în Figura 9.XII.

Zincul „catalitic" se leagă de trei liganzi proteici dintre care doi sînt atomii de sulf aparținînd cisteinelor 46 și 174 și un atom de azot al histidinei 67. O moleculă de apă sau ionii de OH (în funcție de pH) completează simetria tetraedrică de coordinare a ionului metalic. Această moleculă de apă este cuprinsă într-un sistem de legături de hidrogen care include serina 48 și histidina 51. Aceste legături de hidrogen sînt importante în mecanismul catalitic pentru eliberarea protonului după legarea în NAD și polarizarea substratului. Cel de al doilea ion



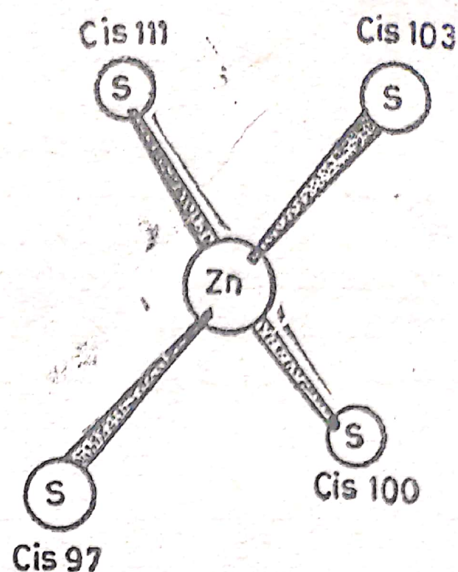
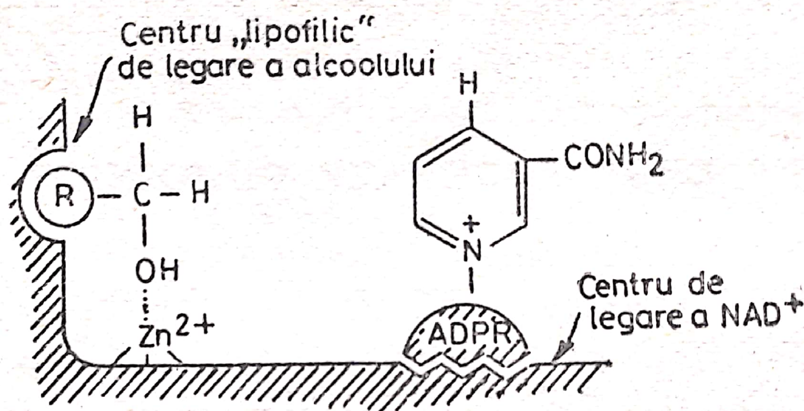
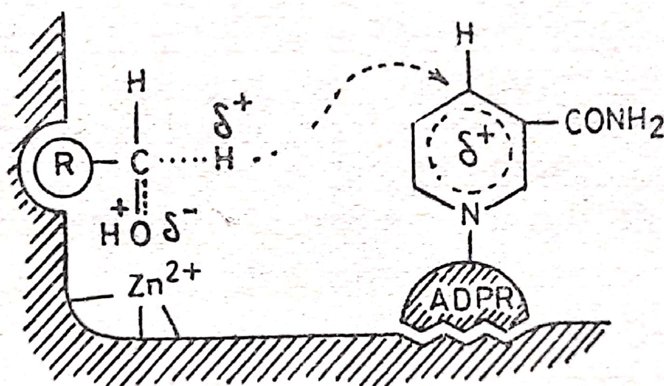


Fig. 9.XIII. Legarea Zn(II) la alcooldehidrogenază.





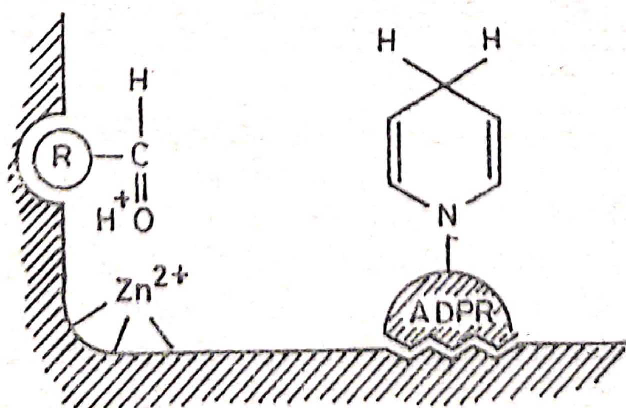


Fig. 9.XIV. Mecanismul de transfer al hidrogenului substratului pe NAD+ catalizat de alcooldehidrogenază.

de zinc este coordinat tetraedric de către patru atomi de sulf aparţinînd cisteinelor 97, 100, 103 şi 111. În Fig. 9.XIV sînt arătate principalele etape de dehidrogenare ale alcoolului etilic catalizate de alcooldehidrogenaze.

Molecula de alcool, ce leagă de centrul lipofilic, prin intermediul lui R, NAD^+, se leagă la enzimă pe un centru specific. Sub influenţa ionilor de Zn are loc deprotonarea funcţiei OH alcoolice, prin deplasarea electronilor spre atomul de oxigen, cu slăbirea concomitentă a legăturii celuilalt atom de hidrogen. Simultan are loc o deplasare a electronilor în nucleul nicotinamidei spre azot şi C_4, favorizînd, în felul acesta, legarea unui hidrogen cedat de alcool. După transferul atomului de hidrogen de la alcool la nucleul nicotinamidei, se desprind succesiv, de pe enzimă, aldehida rezultată, respectiv NADH.

9.7. OXIDAZE CU FIER NEHEMINIC (PROTEINE CU Fe—S)

Constituie o clasă de proteine caracterizate prin prezenţa fierului, însă în absenţa unei structuri heminice, avînd în schimb un conţinut înalt de sulf, reprezentat prin resturile cisteinei sau sulf anorganic, legat de fier. Răspîndite în toate formele celulare, animale, plante, bacterii, aceste proteine se caracterizează printr-o greutate moleculară relativ mică, îndeplinind rolul de transportori de electroni în procesele de respiraţie mitocondrială, reacţiile de hidroxilare sau fixare de azot [56—60]. În ciuda greutăţii moleculare mici, studiul acestor proteine este de dată relativ recentă, atît în ceea ce priveşte structura cît şi semnificaţia biologică, fapt generat de mai multe motive: a) componenta Fe—S din centrul activ nu poate fi extrasă şi examinată chimic asemănător nucleului heminic din citocromi sau alte oxidaze asemănătoare, toate tehnicile de extracţie a acestei componente soldîndu-se cu eliberarea Fe şi S anorganic din centrul activ şi cu pierderea funcţiilor enzimatice; b) spectrele de absorbţie, spre deosebire de cele ale enzimelor heminice, prezintă benzi puţin caracteristice, largi, cu maxime relativ mici, cuprinse între 300 şi 600 nm. Formele oxidate de regulă absorb mai mult decît formele reduse; c) în formă redusă oxidazele cu Fe—S prezintă semnale RES caracteristice în jurul lui $g = 1.94$, dependente de temperatură. Această ultimă proprietate permite dealtfel abordarea directă a centrului activ al acestor enzime, exact cum spectroscopia de absorbţie în vizibil constituie principala modalitate de studiu a enzimelor heminice.

TABELUL 9.7

Proteine cu Fe—S mai reprezentative

	Centrul activ (atomi/mol) Fe	S	G.m.	E (mV)	nr. e trans.
Feredoxina din Clostridium	8	8	6.000	−395	2
„ Chlorobium	8	8	6.000		
Chromatium	8	8	10.000	−490	2
Rhodospirilum rubrum	8	8	13.000		
Azotobacter III	8	8	15.000	−420	
Desulphovibrio	4	4	6.000	−330	1
Bacillus	4	4	8.000	−380	1
HiPIP din Chromatium	4	4	9.650	+350	1
Feredoxina din spanac	2	2	10.000	−420	1
„ Microcystis	2	2	10.300		1
Scenedesmus	2	2	10.600		1
Azotobacter I	2	2	21.000	−350	1
Pseudomonas putida	2	2	12.500	−240	1
E. coli	2	2	12.600	−360	
suprarenală de porc	2	2	12.500	−270	1
mitocondrii (complex III)	2	2	30.000	+280	1
Rubredoxina din Clostridium	1		6.000	− 60	1
Proteine cu Fe—S complexe					
Succinatdehidrogenaza	4	4	70.000		
mitocondrială	+1	FAD			
NADH-dehidrogenaza	28	28			
mitocondrială	+1	FMN			
Xantinoxidaza (lapte, bacterii)	8	8	275.000		
	+2	FAD,	2 Mo		

După Hall, D.O., Rao, K.K., Cammack, R., Sci. Prog., Oxf., 62, 285—317, 1975.

În tabelul 9.7 sînt prezentate cîteva din cele mai reprezentative tipuri de oxidoreductaze cu Fe—S și unele din proprietățile lor.

Atomii de Fe și S sînt aranjați în molecula acestor enzime în trei moduri diferite, deși nu pot fi excluse și alte posibilități În toate cazurile însă, atomii de S coordinează tetraedric atomii de Fe (Fig. 9.XV).

Identificarea structurii proteinelor cu Fe-S a pornit de la componenții cu greutate moleculară mică, cum este cazul rubredoxinei sau unor feredoxine bacteriene, izolate în stare pură.

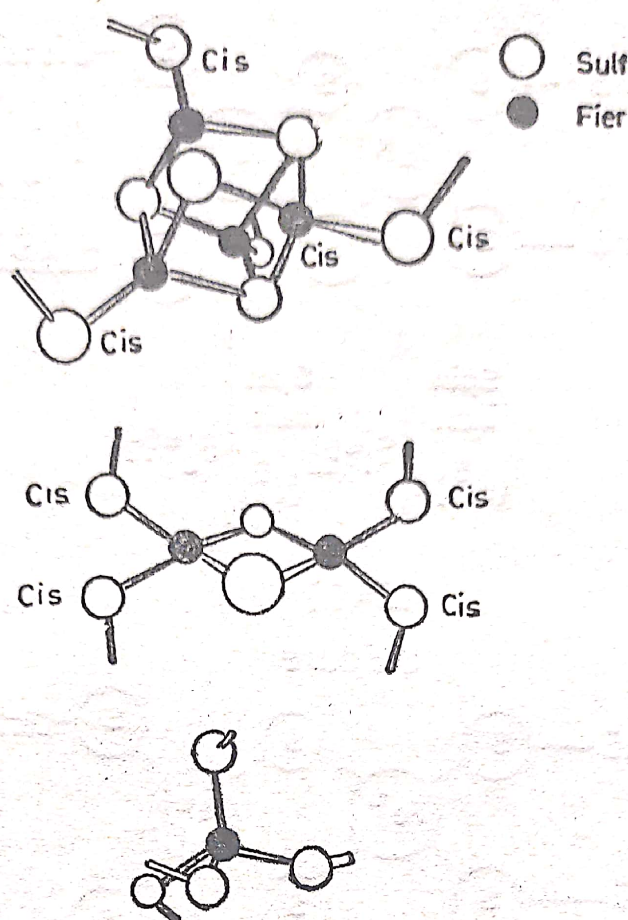


Fig. 9.XV. Modalitățile de aranjare a Fe și S în oxidazele cu fier neheminic.

Prin tratare cu acizi, Fe și S sînt eliberați sub formă anorganică, rezultînd apoproteină. Prin incubarea acesteia cu Fe și S, în prezența unor tioli (mercaptoetanol), se reface enzima activă. Sulful poate fi înlocuit cu Se, însă Fe nu poate fi înlocuit prin nici un alt metal. Structura rubredoxinei din C. pasteurianum, determinată la o rezoluție de 2,5 Å, permite o apreciere mai detaliată a centrului activ, avînd în vedere că este cunoscută și structura primară a acestei proteine. Fe este legat de proteină prin intermediul a patru atomi de S, aparținînd la tot atîtea resturi de cisteină. Distanțele Fe—S nu sînt egale, fiind de 2,21; 2,42; 2,37 și respectiv 2,22 Å. Această distorsie a simetriei de coordinare a metalului modifică profund proprietățile chimice ale acestuia din urmă în raport cu ceea ce ar fi de așteptat din modelele anorganice simple. Dealtfel semnalul RES neobișnuit de mare a rubredoxinei oxidate, $g = 4{,}3$, indică prezența Fe(III) cu spin înalt și cu o distorsie rombică semnificativă. Modelul tetraedric a fost confirmat și de spectrele CD în infraroșu apropiat ca și din spectrele Raman. O concluzie importantă este faptul că structura tridimensională din jurul ionului metalic este identică în soluție și în stare cristalină.

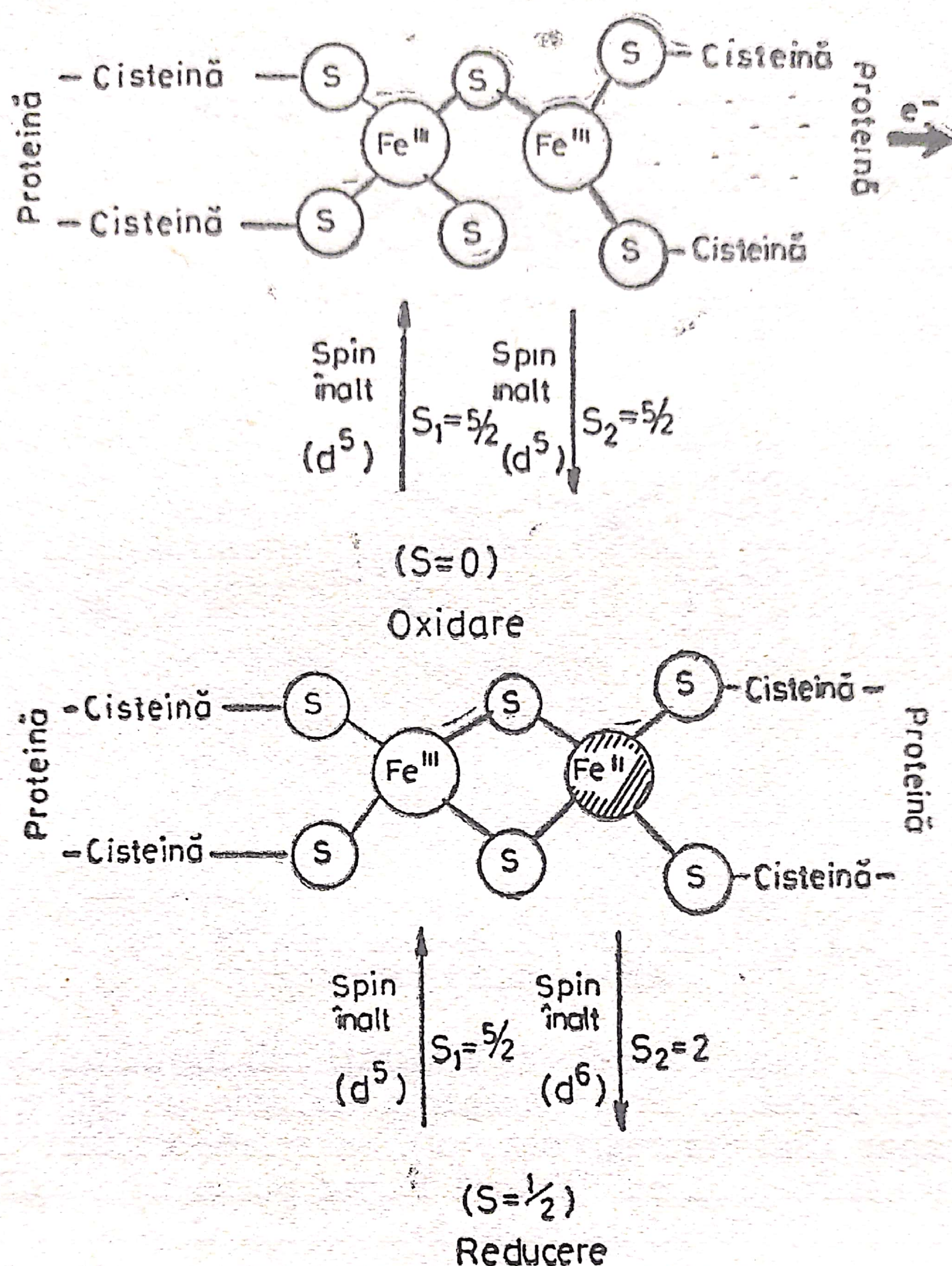


Fig. 9.XVI. Formele oxidate și reduse ale feredoxinelor.

Feredoxinele aparținînd vegetalelor și bacteriilor diferă prin conținutul lor în Fe și S. Primele conțin cîte 2 atomi din fiecare specie, pentru o unitate polipeptidică, în timp ce ultimele au un conținut mult mai ridicat, mergînd pînă la 8 atomi de Fe și S. Feredoxinele vegetale sînt mai puțin studiate prin difracție cu raze X, datorită dificultăților în obținerea unor cristale suficient de mari. Dintre proprietățile interesante ale feredoxinelor remarcăm prezența spectrelor RES caracteristice în stare redusă, cu toate că, în mod normal, această proprietate este conferită de Fe(III). Pe de altă parte valorile medii g sînt situate în jurul lui 2, cu mult mai mici decît cele ale compușilor

înrudiți. După Gibson și colab. [61], cei doi ioni de Fe(III) cu spin înalt sînt cuplați antiferomagnetic prin intermediul punții de S labile astfel încît momentele lor de spin se anulează reciproc. În forma redusă, unul din cei doi ioni de Fe(II) este cu spin înalt, dînd un spin net S = 1/2 (Fig. 9.XVI).
Acest model a fost confirmat și prin spectroscopie Mössbauer. Rolul resturilor cisteinice din centrul activ al feredoxinelor a fost pus în evidență prin ^1H—NMR. În ciuda spectrului complex, rezonanța unor grupări suferă deplasări față de spectrul normal prin interacțiuni magnetice ale grupărilor beta-CH_2 cu gruparea cromoforă Fe—S.

Feredoxina din P. aerogenes, cu un număr de 8 Fe per unitate polipeptidică, are structura primară și tridimensională complet elucidată (Fig. 9.XVII).

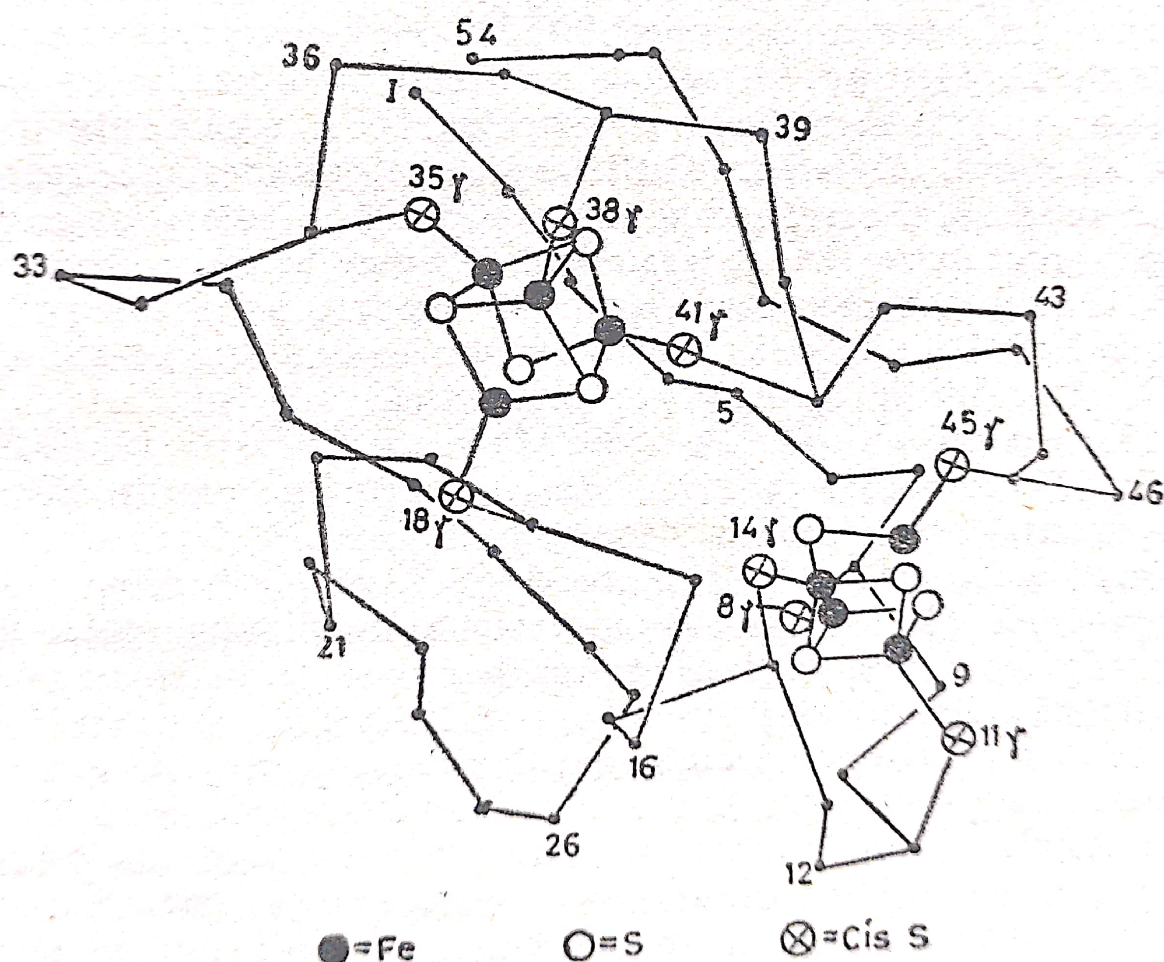


Fig. 9.XVII. Structura tridimensională a feredoxinei din P. aerogenes.

Cele două grupări Fe-S au forma tetraedrică, în care 4 atomi de fier formează o unitate tetraedrică care se interpătrunde cu o altă unitate tetraedrică ceva mai mare formată din sulf labil. Cele două grupări Fe-S sînt împachetate de un număr de numai 54 aminoacizi, ceea ce revine unui conținut de 7% Fe, cu

alte cuvinte o proteină deosebit de eficientă, în termenii transportului de electroni per unitate proteică.

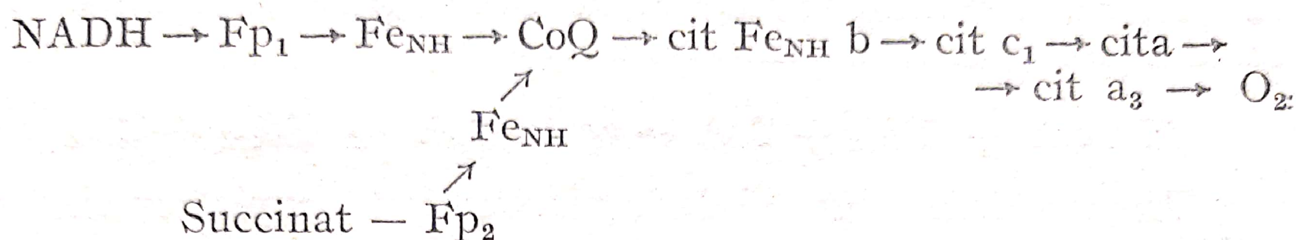
Determinarea secvențelor aminoacizilor la un număr de 6 feredoxine cu 8 Fe-S în moleculă (Clostridium butyricum, pasteurianum, acidiurici, tartrarivorum, thermosaccharolyticum și peptococus aerogenes) indică o mare omologie a secvențelor din cele 2 jumătăți ale moleculelor. Cele două unități tetraedrice de Fe-S sînt legate prin resturi de cisteină, aflate în poziții identice în toate speciile investigate: cisteinele 8,11,14 și 15 pentru o unitate și cisteinele 35,38,41 și 18 pentru altă unitate Fe-S. Cu toate dimensiunile mici ale componentei proteice, unitățile Fe-S sînt bine învelite de proteină care le protejează de mediul apos învecinat.

La un potențial redox complet diferit de feredoxinele amintite se află proteina cu Fe-S de potențial înalt (+350mV) din Chromatium, notată prescurtat HiPIP (high-potential iron-sulfur protein). Deși grupul tetraedric Fe-S este organizat asemănător celui din structura feredoxinelor, spectrul RES este cu totul diferit de al acestora. Astfel, în HiPIP spectrul caracteristic apare în forma oxidată. Această diferență esențială a celor două tipuri de oxidoreductaze este determinată desigur de componenta proteică. S-a arătat că printr-o parțială depliere a lanțului polipeptidic în HiPIP, cum ar fi tratamentul cu DMSO(dimetil-sulfoxid), Fe-S este adus la o stare paramagnetică asemănătoare cu cea din feredoxina redusă. Pe de altă parte, unitatea tetraedrică din HiPIP este mai puternic mascată prin inclavarea adîncă în componenta proteică, iar asocierea strînsă Fe-S-proteină este realizată printr-un număr mare de legături de hidrogen. Prin oxidarea HiPIP are loc contractarea unității tetraedrice Fe-S cu modificarea lungimii anumitor legături de hidrogen.

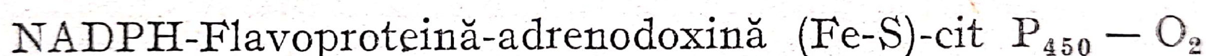
Rolul biologic al proteinelor cu Fe-S (denumire preferată celei de oxidoreductaze cu fier neheminic) poate fi rezumat la următoarele procese fundamentale: fosforilare oxidativă în celulele animale, fotofosforilare în plante, fixarea azotului și reacții fosforoclastice la bacterii. În cele ce urmează vom trece în revistă pe scurt funcțiile prin care proteinele cu Fe-S merită atenția acordată în ultimul timp.

Deși, deja în 1953, s-a presupus participarea unor proteine cu fier neheminic în lanțul respirator mitocondrial, au fost necesari 10 ani pentru identificarea semnalului RES caracteristic acestor proteine în particulele submitocondriale. Localizarea acestor proteine în lanțul respirator este complicată de faptul că conținutul în Fe neheminic în mitocondrii este de 2 ori mai mare decît acela în citocromi și că Fe neheminic este distribuit

în cel puțin 3 poziții distincte din lanțul respirator. Toate cele trei complexe (NADH-Coenzima Q reductaza, I ; succinat-Coenzima Q reductaza, II ; Coenzima Q-citocrom c reductaza, III) conțin proteine cu Fe-S (notate Fe_{NH}), cu excepția complexului IV, al citocromoxidazei.



Complexul I conține 5 centri distincți Fe-S, cu potențiale redox caracteristice și sensibilitate diferită a semnalelor RES în funcție de temperatură. Complexul II are 3 asemenea centrii, dintre care unul cu potențial + 30 mV, g.m. 27.000 și 2 Fe-S per moleculă. În complexul III au fost detectate 3 specii distincte, dintre care una cu g.m.30.000, de asemenea avînd 2 Fe-S, dar cu un potențial redox foarte ridicat (+280 mV). Din mitocondriile glandei suprarenale s-a izolat o proteină cu 2 Fe, care participă în procesele de hidroxilare a steroizilor, numită adrenodoxina. Are g.m.12.500 și un potențial redox —370 mV. Adrenodoxina este cuprinsă în următorul lanț de reacții ce acompaniază 11-beta-hidroxilarea dezoxicorticosteronei.

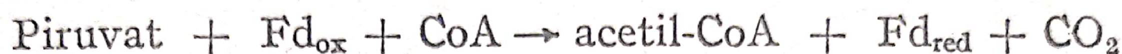


Faptul că lanțul respirator fragmentat între succinat și O_2 a putut fi reconstituit fără adăugarea proteinelor cu Fe-S ridică problema participării lor în procesul de fosforilare oxidativă și, într-o mai mică măsură, ca transportori de electroni. La cele discutate mai sus putem adăuga cunoștințe similare obținute la mitocondriile din drojdie (în special Saccharomyces și Torulopsis) sau pe membrane transportoare de electroni din Mycobacterium Phlei.

În cloroplaste a fost izolată o proteină de culoare roșie-brună solubilă în apă, avînd greutatea moleculară 10.600, doi atomi de Fe și S pe moleculă și un potențial redox—420 mV. Aceste proteine participă ca transportori de electroni între sistemul fotoreducător al cloroplastelor și nucleotidele piridinice. Pe lîngă această proteină, prin RES, au fost detectate alte două proteine atașate la membrana cloroplastelor cu un potențial redox și mai negativ, —600 mV și respectiv —560 mV. Aceste proteine sînt implicate în procesul de fotofosforilare neciclică care constă în reducerea $NADP^+$ cu sinteza concomitentă de ATP, și în procesul de fotofosforilare ciclică, ce decurge numai

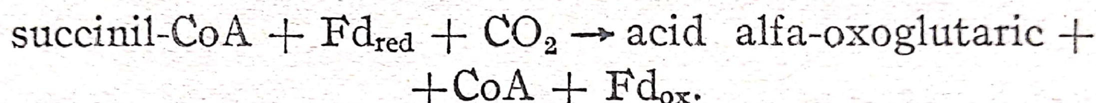
cu formarea ATP. Feredoxina redusă în cursul fotosintezei este reoxidată de o flavoproteină, feredoxin-NADP reductaza, care transformă $NADP^+$, acceptorul final de electroni, în NADPH.

Din clostridium pasteurianum (anaerob obligator) a fost izolată prima feredoxină care face parte din sistemul fixator de N_2 la bacterii, asigurînd transferul de electroni între reacţiile fosforoclastice şi sistemul nitrogenazic.



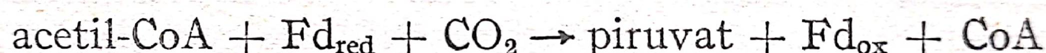
$$\text{Piruvat} + Fd_{ox} + \text{CoA} \rightarrow \text{acetil-CoA} + Fd_{red} + CO_2$$

Transferul de electroni de la piruvat la N_2 cuplat cu sinteza ATP este o parte importantă a fermentării glucozei şi a altor substrate la bacterii obligatoriu anaerobe. La bacteriile fotosintetice, de asemenea obligatoriu anaerobe, proteinele cu Fe-S catalizează fixarea CO_2 prin sinteza alfa-oxoacizilor, cum ar fi acidul alfa-oxoglutaric sau acidul piruvic (reacţia de mai sus în sens invers):



$$\text{succinil-CoA} + Fd_{red} + CO_2 \rightarrow \text{acid alfa-oxoglutaric} + \\ + \text{CoA} + Fd_{ox}.$$

Sinteza acidului piruvic de către piruvatsintetază:



$$\text{acetil-CoA} + Fd_{red} + CO_2 \rightarrow \text{piruvat} + Fd_{ox} + \text{CoA}$$

a fost observată la Clostridium pasteurianum sau la Clostridium Kluyveri prin creşterea pe etanol. Din unele bacterii s-au izolat sisteme enzimatice responsabile de fixarea N_2. Indiferent de faptul că e vorba de bacterii strict anaerobe, ca şi Cl. pasteurianum, sau strict aerobe, ca Azotobacter, sistemele enzimatice sînt asemănătoare şi constau din 2 componente foarte sensibile la acţiunea oxigenului molecular (se inactivează chiar la scurt timp după expunere la aer), cunoscute sub numele de azoferedoxine sau molibdenoferedoxine la Cl. pasteurianum. Ambele componente participă în transferul electronilor de la o a treia proteină cu Fe şi S (feredoxină) la N_2 printr-o reacţie care reclamă ATP.

Un grup particular de proteine cu Fe şi S îl constituie acelea care posedă în plus şi o grupare flavinică în calitate de componentă prostetică (sulfatreductaza, dihidroorotatreductaza), respectiv gruparea flavinică, însoţită de un metal, ca molibdenul (xantinoxidaza, aldehidoxidaza). Dihidroorotatdehidrogenaza, izolată din Zymobacterium oroticum, are g.m. 120.000, conţine două molecule de FAD şi 2 molecule de FMN; enzima posedă doi centri activi echivalenţi care catalizează transportul de electroni între acidul orotic şi NADH. Prin tehnici RES de „îngheţare" (denumite astfel că în anumite etape ale reacţiei se iau probe răcite

brusc pentru a opri desfășurarea reacției într-un anumit punct) s-a ajuns la concluzia că probabil Fe nehemimic este situat între grupările flavinice. Sulfatreductaza din E. coli este o enzimă cu g.m. mare (760.000), conține 12 moli Fe nehemimic, un număr egal de atomi de sulf și cîte 4 moli de FAD și FMN.

Un aspect particular legat de proteinele cu Fe și S, dar care merită menționat, este rolul lor în stabilirea evoluției diferitelor tipuri de bacterii și alge. După cum bine se știe azi, aceste proteine sînt dintre cele mai „primitive", care apar în toate formele celulare, de la bacterii obligatoriu anaerobe la plante superioare și animale. Feredoxinele bacteriene, de pildă, considerate printre cele mai vechi proteine, participă, în condiții deosebit de reducătoare, la un potențial redox apropiat de cel al electrodei de H_2 (—420 mV), în reacții deosebit de importante pentru bacteriile obligatoriu anaerobe, cum ar fi utilizarea hidrogenului, reducerea NAD(P), sinteza de ATP, fixarea azotului sau metabolismul piruvatului. Un alt argument important în favoarea „vechimii" acestor proteine este dimensiunea lor neobișnuit de mică, varietatea foarte limitată de aminoacizi componenți care pot fi sintetizați chiar în condiții abiogenice. Fe și S, necesari centrului activ, constituie forme abundente de materie în toate epocile geologice. Compararea secvențelor, încă puține la număr, ale diferitelor feluri de feredoxine, au permis elaborarea de pe acum a unor ipoteze interesante indicînd omologii în structura primară cu totul frapante. Astfel, compararea secvenței aminoacizilor din 5 specii de Clostridium, bacterii așa cum am văzut anaerobe, dezvăluie o invarianță a resturilor de cisteină și a unui număr de 35 aminoacizi, din totalul de 50. Pe de altă parte, din cei 20 aminoacizi naturali, întîlniți cu frecvență maximă în proteine, numai 9 (reprezentînd 91% din totalul moleculei) sînt comuni; 6 din aceștia (glicocol, alanină, valină, acid glutamic, acid aspartic și prolină), care reprezintă 2/3 din totalul moleculei, au fost identificați în unii meteoriți, ceilalți trei (cisteină, serină și izoleucină) au putut fi sintetizați în condiții ce simulează întru totul condițiile celor mai îndepărtate epoci geologice. Toate aceste fapte pledează pentru ipoteza formării unor feredoxine din apoproteină în prezența Fe și S în condiții anaerobiotice și în absența unei catalize enzimatice.

O formă imediat superioară de evoluție o constituie bacteriile fotosintetice (speciile Chlorobium și Chromatium) capabile să utilizeze H_2S, tiosulfatul, în prezența luminii. Urmează apoi bacteriile capabile să reducă sulfatul, algele (constituite ele însele într-o secvență determinată de complexitatea aparatului fotosintetic și a conținutului în pigmenți) lipsite de cloroplaste

sau prevăzute cu cloroplaste, și, în sfîrșit, plantele superioare. Bacteriile reducătoare de sulfiți constituie un fel de limită de separare a formelor anaerobe de cele aerobe de viață și, probabil, o etapă primară în dezvoltarea sistemelor animale.

BIBLIOGRAFIE

1. Mildvan, A. S., în *The Enzymes*, Boyer, P. D. (editor) vol. 2., III edition, Acad. Press, New York, 446–536, 1970.
2. Miller, R. S., Mildvan, A. S., Sang, H., Easterday, R., Marayama, H și Lane, M. D., J. Biol. Chem., 243, 6030, 1968.
3. Watts, D. C., în *The Enzymes*, Boyer, P.D. (editor), vol. 8. III edition, Acad. Press, New York, 384–455, 1973.
4. Kayne, F. J., în *The Enzymes*, Boyer, P.D. (editor), vol. 8 III edition, Acad. Press, New York, 353–382, 1973.
5. Vallee, B. L., și Riordan, I. F., Brookhaven Symp. Biol., 21, 91, 1968.
6. Kaiser, E. T., și Kaiser, B. L., Accounts. Chem. Res., 5, 219, 1972.
7. Sigman, D. S., și Moser, G. Ann. Rev. Biochem., 44, 889–931, 1975.
8. Lipscomb, W. N., Chem. Soc. Rev., 1, 319, 1970.
9. Mildvan, A. S., Ann. Rev. Biochem., 43, 357–399, 1974.
10. Davies, R. P., *The Enzymes*, Boyer, P.D. (editor), vol. 5, II edition Acad. Press, New York, 545, 1961.
11. Riepe, M.C., și Wang, J.H., J. Biol. Chem., 243, 2779, 1968.
12. Lanir, A. și Navon, G. Biochemistry, 10, 1026, 1971.
13. Lanir, A. și Navon, G., Biochemistry, 11, 3536, 1972.
14. Knox, J. R., și Wychoff, H. W., J. Mol. Biol., 74, 533, 1973.
15. Griffits, J. și Handschuh, Clin. Chem., 23, 567–570, 1977.
16. Morin L. G., Clin. Chem., 22, 92–97, 1976.
17. Fattoum, A., Kassab, R. și Pradel, L. A., Biochim. Biophys. Acta, 405, 324–339, 1975.
18. Saks, V. A., Lipira, N. V., Smirnov, V. N., și Chazov, E. I., Arch. Biochem. Biophys., 173, 34–41, 1976.
19. O'Sullivan, W.J. și Morrison, J.F., Biochim. Biophys. Acta, 77, 142, 1963.
20. Samuels, A. J., Biophys. J., 1, 437, 1961.
21. Schulz, G. E., Elzinga, M., Marx, F. și Schirmer, R. H., Nature, 250, 120–123, 1974.
22. Schulz, G.E. și Schirmer, R. H., în *Structure and Conformation of Nucleic Acids and Protein-Nucleic Acid Interactions* Ed. M. Sundaralingam și S.T. Rao, Univ. Park Press, Baltimore, 303–315, 1975.

23. Mildvan, A. S., Sloan, D. L., Fung, C. H., Gupta, R.K. şi Melamud, E., J. Biol. Chem., 251, 2431–2434, 1976.
24. Gupta, R. K., Fung, C. H. şi Mildvan, A. S., J. Biol. Chem., 251, 2421–2430, 1976.
25. Reynard, A. M., Hass, L. F., Jacobsen, D. D. şi Boyer, P. D., J. Biol. Chem., 236, 2277–2283, 1961.
26. Parks, R.E. Jr. şi Agarwal, R. P., în *The Enzymes*, Boyer, P. D., (Ed.), vol. 8 III[rd] edition Acad. Press, New York, 307–334, 1973.
27. Hess, B., Hackel, R. şi Brand, K., Biochem. Biophys. Res. Communs, 24, 824, 1966.
28. Jomain-Baum, M. şi Schramm, V. L., J. Biol. Chem., 253, 3648–3659, 1978.
29. Narindrasorasak, S. şi Bridger, W. A., J. Biol. Chem., 252, 3121–3127, 1977.
30. Miller, R. S. şi Lane, M. D., J. Biol. Chem., 243, 6041–6049, 1968.
31. Antonini, E. şi Brunori, M., Ann. Rev. Biochem., 39, 979–1042, 1970.
32. Phillips, S.E.V., Nature, 273, 247–248, 1978.
33. Padlan, E.A. şi Love, W. E., J. Biol. Chem., 249, 4067–4078, 1974.
34. Edelstein, S. J., Nature, 230, 224–227, 1971.
35. Edelstein, S. J., Ann. Rev. Biochem., 44, 209–232, 1975.
36. Benesch, R.E. şi Benesch, R., Advan. Protein Chem., 28, 211–237, 1974.
37. Antonini, F. şi Brunori, M. *Hemoglobin and Myoglobin in Their Reactions with Ligands*, Amsterdam, North Holland Publ. Co., 1971.
38. Roughton, F.J.W. J. Gen. Physiol., 49, 105–126, 1965.
39. Edelstein, S.J. şi Gibson, Q.H. *Probes of Structure and Function of Macromolecules and Membranes. Probes of Enzymes and Hemoproteins*, Ed. B. Chance, T. Yonetani lu A. S. Mildvan, Academic Press, New York, 2, 417–429, 1971.
40. Soni, S. K. şi Kiesow, L. A., Biochemistry, 16, 1165–1170, 1977.
41. Dickerson, R. E., Takano, T., Eisenberg, D., Kallai, O. B., Samson, I., Cooper, A. şi Margoliash, E., J. Biol. Chem., 246, 1511–1535, 1971.
42. Hayaishi, D. *Molecular Mechanism of Oxygen Activation*, New York, Acad. Press, 1974.
43. Bisson, R., Azzi, A., Gutweniger, H., Colonna, R., Montecucco, C. şi Zanotti, A., J. Biol. Chem., 253, 1874–1880, 1978.
44. Eytan, G. D., Carroll, R. C., Schatz, G. şi Racker, E., J. Biol. Chem; 250, 8598–8613, 1975.
45. Margoliash, E., Barlow, G. H. şi Byers, V., Nature, 228, 723–726, 1970.
46. Downer, N. W., Robinson, N.C. şi Capaldi, R. A., Biochemistry, 15, 2930–2936, 1976.
47. Ferguson-Miller, J., Brautigan, D.L. şi Margoliash, E., J. Biol. Chem., 251, 1104–1115, 1976.
48. Wohlrab, H., Biochem. Biophys. Res. Communs, 35, 560–564, 1969.

49. Wilson, D.F. și Dutton, L. P., Arch. Biochem. Biophys., 136, 283—284 1970.
50. Nicholls, P. și Schonbaum, G.R. în *The Enzymes*, P. D. Boyer (Ed.), vol. 8, II[nd] edition, Academic Press, New York, 147—225, 1973.
51. Bray, R. C., în *The Enzymes*, P. D. Boyer (Ed.), vol. XII, B, 299—419, Acad. Press, New York, 1975.
52. Krenitsky, T. A., Niel, S. M., Elion, G.B. și Hitchins, G. H., Arch. Biochem. Biophys., 150, 585, 1972.
53. Ecklaund, H., Nordström, B., Zeppezauer, E., Söderlund, G., Ohlson, I., Boiwe, T., Söderberg, B. O., Tepia, O., Branden, C. I., Ackeson, A., J. Mol. Biol., 102, 27—59, 1976.
54. Weiner, H., Biochemistry, 8, 526—533, 1969.
55. Hoagstrom, C. W., Iweibo, I. și Weiner, H., J. Biol. Chem., 244, 5967—5971, 1969.
56. Buchanan, B.B. și Arnon, D. I., Adv. Enzymol., 33, 119, 1970.
57. Orme-Johnson, W. H., Ann. Rev. Biochem., 42, 159, 1973.
58. Yoch, D. C., Valentine, R. C., Ann. Rev. Microbiol., 26, 139, 1972.
59. Hall, D. O., Cammack, R. și Rao, K. K., în *Iron in Biochemistry and Medicine* (Ed. A. Jacobs), Acad. Press, New York, 1974.
60. Hall, D. O., Rao, K.K. și Cammack, R., Sci. Progr. Osf., 62, 285—317, 1975.
61. Gibson, F. J., Hall, D. D., Thornley, J.H.M. și Whetley, R. F., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 56, 987, 1966.

CAPITOLUL 10

CHELAŢI SINTETICI MODELE PENTRU SISTEMELE BIOLOGICE

Aşa cum s-a arătat deja, rolul deosebit de important pe care-l joacă ionii metalelor tranziţionale în funcţionarea organismelor vii, este determinat de contribuţia lor în numeroase procese biologice cum sînt ruperea şi formarea unor legături chimice, transferul de sarcină, transferul de oxigen, fixarea azotului, fotosinteza etc. Pe de altă parte, specificitatea şi selectivitatea acţiunii ionilor metalici sînt strîns legate de capacitatea lor de a forma complecşi (mai ales chelaţi) şi solvaţi, procese asociate unor modificări foarte fine ale potenţialului electrochimic.

În ultimii ani mai ales, numeroase cercetări au ca obiect, obţinerea unor chelaţi sintetici ai ionilor metalelor tranziţionale cu liganzi macrociclici care pot servi ca modele de studiu pentru formarea, reactivitatea şi rolul chelaţilor naturali în procesele biologice. În abordarea unor astfel de probleme, trebuie să se ţină seama de diversele posibilităţi de interacţiune dintre ionii metalici şi speciile complexante biologice. În acest scop, au fost utilizate computere [1, 2], pentru aprecierea cantitativă aproximativă a unor parametri implicaţi în procesele cercetate şi anume: concentraţiile ionilor metalici liberi, concentraţiile tuturor complecşilor care se formează, ca şi modul în care se distribuie un ion metalic între agenţii complexanţi, influenţa modificării pH-ului asupra distribuţiei ionilor metalici, influenţa excesului (inclusiv intoxicaţiile) şi deficitului de ioni metalici asupra distribuţiei lor între agenţii complexanţi, influenţa variaţiei concentraţiei agenţilor complexanţi în general, şi a celor chelatoformatori în special, asupra distribuţiei ionilor matalici, influenţa adăugării unor agenţi complexanţi capabili să înlăture sau să micşoreze concentraţia ionilor metalici nedoriţi (stînjenitori), uşurînd astfel excreţia lor (de exemplu substanţele complexante terapeutic active ca penicilamina, BAL, etc).

Acest mod de abordare se poate extinde la cazul intoxicaţiilor cu metale grele, dacă se ţine seama şi de volumele aproximative ale ţesuturilor, de coeficienţii de distribuţie ai ionilor metalici în ţesuturi, de posibilitatea modificării sau a distrugerii unor

enzime etc. În acest fel, alegerea agenților de mascare terapeutic activi, cu aplicații în intoxicațiile cu metale grele, nu se mai face empiric, ci în mod rațional, științific.

Din punct de vedere biologic, prezintă importanță atît unii ioni ai metalelor reprezentative, cît mai ales ionii metalelor tranziționale.

10.1. COMPLECȘI AI METALELOR DIN GRUPELE IA–VA

Dintre ionii metalelor alcaline, ionii Na(I) și K(I) sînt mai importanți pentru organismele vii. Dar acești ioni, avînd o structură a învelișului electronic exterior de gaz inert, sînt polarizanți slabi și puțin polarizabili, manifestă o slabă tendință de a forma complecși. Complecșii puțin numeroși pe care-i formează cu liganzi voluminoși și grei nu au o stabilitate prea mare. În ultimul deceniu însă, au fost obținuți unii liganzi macrociclici, cum sînt eterii de tip coroană, unele antibiotice (Fig. 10. I, 10.II., 10. III) și unele peptide antibiotice (Fig. 10.IV), care pot complexa ionii de potasiu [3, 4], și de sodiu.

Chelații pe care-i formează sodiul și potasiul cu acești liganzi au fost utilizați ca modele pentru studiul transportului ionic prin membrane, în vederea asigurării unui control mai corect al echilibrului hidromineral în organism.

Dintre chelații metalelor alcalino-pămîntoase mai important este Doxium (dobesilat de calciu, respectiv 2,5-dihidroxibenzensulfonat de calciu), care se utilizează pentru ameliorarea fragilității capilarelor respectiv pentru normalizarea permeabilității vasculare. [5].

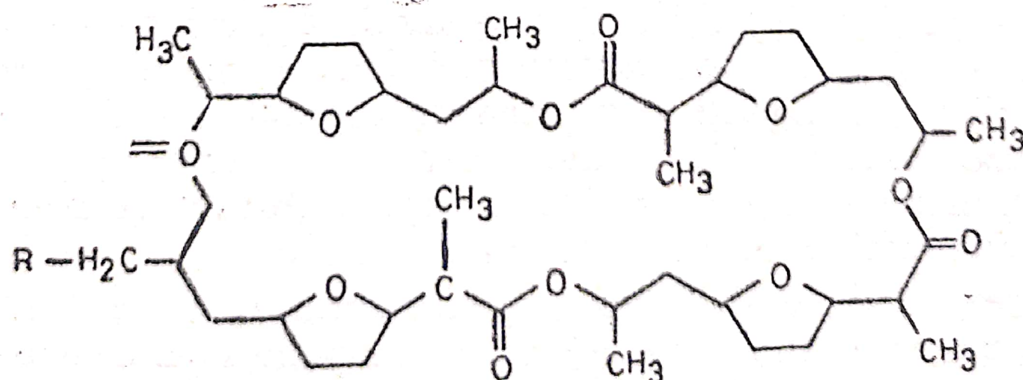


Fig. 10.I. Eter de tip coroană.

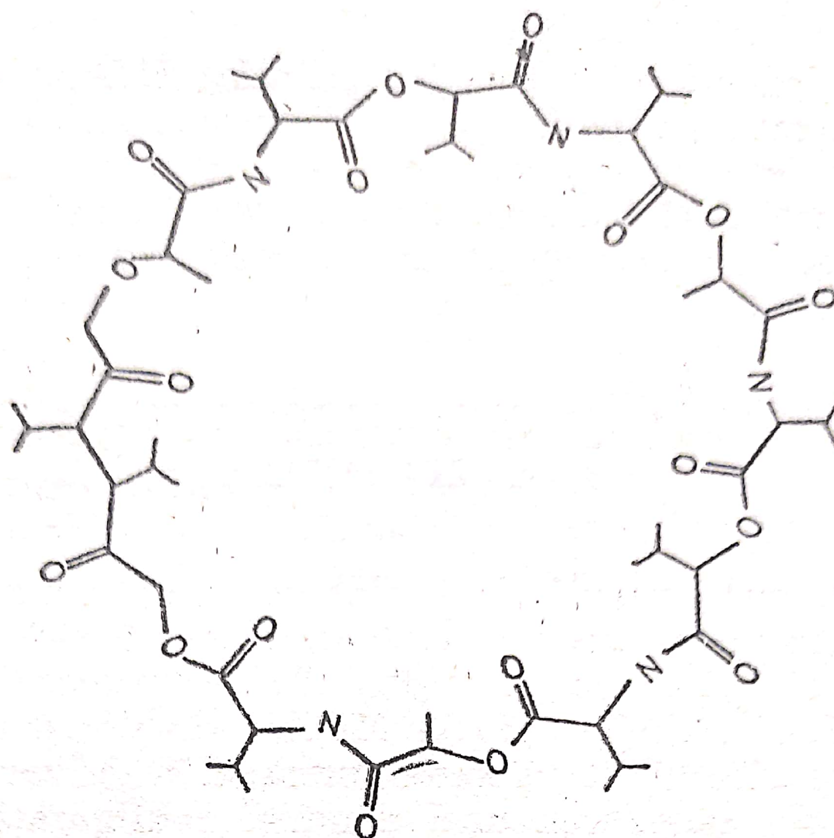


Fig. 10.II. Eter de tip coroană.

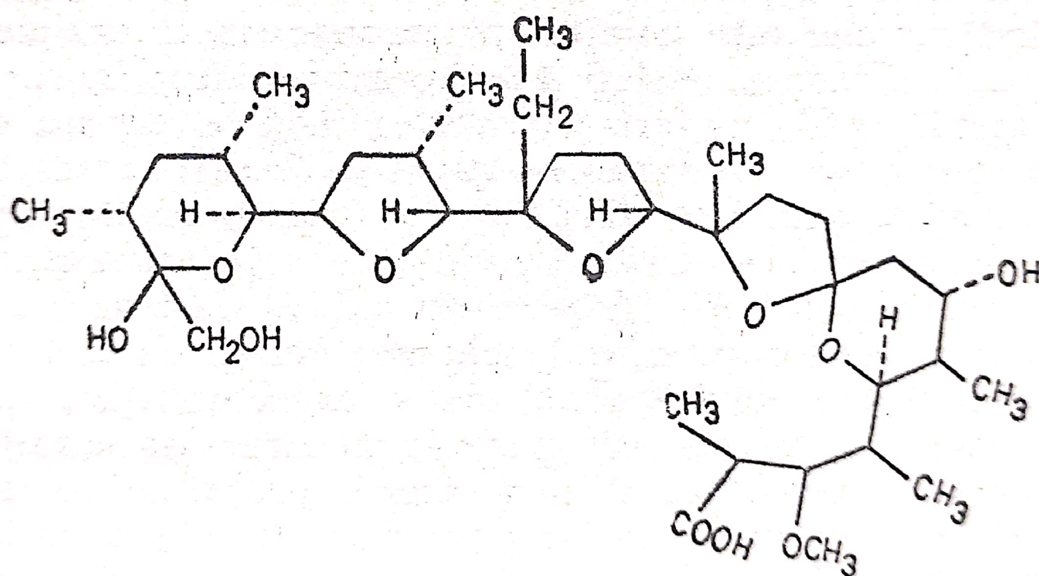
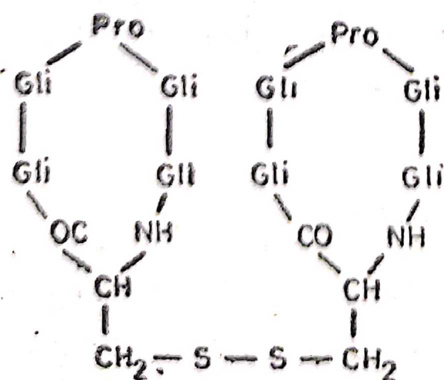


Fig. 10.III. Antibiotic.



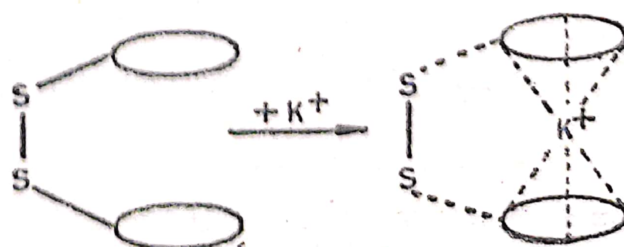


Fig. 10.IV. Antibiotic polipeptidic.

Restul ionilor metalelor din grupele IIIA, IVA și VA, prezintă importanță fie din punct de vedere terapeutic, fie din punct de vedere toxicologic (vezi cap. următor). De remarcat totuși că ionul Al(III) are rol de activator al succindehidrogenazei, fiind deci implicat direct în procesele biologice.

10.2. COMPLECȘI SINTETICI AI METALELOR TRANZIȚIONALE

Ionii metalelor tranziționale sînt implicați în numeroase procese ce au loc în organismele vii, mai ales datorită faptului că acțiunea catalitică a enzimelor depinde de prezența unor astfel de ioni ca Fe(II), Cu(II), Zn (II), Mn(II), Mo(VI), denumiți și vitamine anorganice [8]. Rolul ionilor metalici în activarea enzimelor se explică prin asigurarea unei anumite configurații spațiale a enzimelor, favorabilă formării de chelați cu substratul, prin legături coordinative mediate de ionii metalici (chiar în cazul în care ionul metalic este component permanent al enzimei). Pe de altă parte, chiar unii chelați ai ionilor trivalenți ai lantanidelor, cu acid glutamic [6], au fost utilizați ca modele pentru studiul unor complecși metal-proteinici, precum și pentru studiul rolului pe care-l îndeplinește Ca(II) în transmiterea influxului nervos, în activarea unor enzime și în contracția musculară [7].

În general, ultimele decenii au adus progrese deosebite în desluşirea multor procese biochimice importante. Cu toate acestea există încă multe probleme și aspecte nelămurite sau cărora li s-a dat un răspuns parțial, și care sînt cercetate în continuare cu insistență. Printre aceste probleme se numără și acelea ale modului de legare a oxigenului de transportorii de oxigen naturali, ca și a condițiilor în care se realizează oxigenarea reversibilă. Se poate menționa de asemenea problema fixării azotului molecular, și conversia acestuia în amoniac, de către bacteriile azotogene etc. În cele ce urmează, se fac referiri numai la unele dintre aceste probleme.

10.2.1. Complecși transportori de oxigen

Complecșii sintetici transportori de oxigen au marele avantaj că se pot studia pentru cunoașterea structurii, a proprietăților lor fizico-chimice, ca și proprietățile aducților lor formați cu oxigenul. Toate acestea farorizează studierea modului în care

se face activarea oxigenului și a mecanismului de oxigenare reversibilă, de către complecșii sintetici și, prin analogie, de către cei naturali. Trebuie subliniat însă că există și unele dificultăți mari în acest sens. Așa, de exemplu, capacitatea de fixare a oxigenului de către transportorii de oxigen, scade treptat (după cîteva sute de cicluri de oxigenare-dezoxigenare) din cauza oxidării reversibile a ionului metalic. Pe de altă parte, unii transportori sintetici de oxigen sînt instabili. Datorită acestor dezavantaje, cunoașterea factorilor implicați în procesul de oxigenare reversibilă (adică modul de legare și de orientare a oxigenului față de ionul metalic, ca și starea de oxidare a acestuia din urmă în aducți) este încă incompletă.

Dintre ionii metalelor tranziționale care pot forma chelați transportori de oxigen se pot aminti în primul rînd ionii metalelor din grupa a VIII-a (Fe, Co, Ni, Ir, Rh, Pt etc), dar se cunosc și unii complecși ai cuprului, manganului și reniului, care au această însușire.

Însușirea de transportori de oxigen (respectiv de a fixa oxigenul) a fost observată pentru prima dată la unii complecși ai Co(II) cu amoniacul [9, 10], care se închid la culoare în prezența oxigenului, datorită formării unui aduct de tipul $[(NH_3)_5CoO_2Co(NH_3)_5]X_4$, raportul de combinare fiind de $2Co:1O_2$. De remarcat că numai pentamina poate juca rol de transportor de oxigen [20], complecșii conținînd mai puțin amoniac fiind inactivi. Se cunosc și alți complecși ai cobaltului, cum este Co-3-metoxi-salen, pentru care aducții cu oxigenul se realizează în raportul de 1 : 1[11]. Unii complecși solizi ai Co(II), cum este Co(II)-salen (Fig. 10.V) (salen = N,N-etilen-bis-salicilideniminato [12]) se închid și ei la culoare, datorită formării unui aduct cu oxigenul. Dar, unii autori [13] au observat că numai o anumită modificare a complexului Co-salen are însușiri de transportor de oxigen în diferiți solvenți, mai ales organici [14—18]. S-a constatat de asemenea că raportul Co(II) : O_2 este de 2 : 1 în speciile dimere și de 1 : 1 în cele monomere ; majoritatea aducților au o structură dimeră. Aducți în care raportul

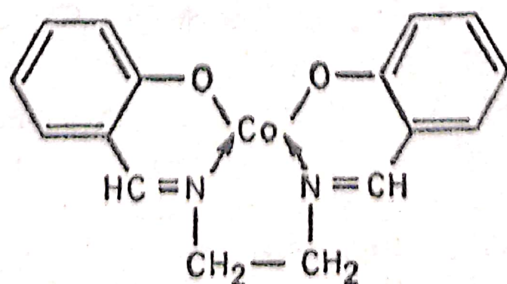


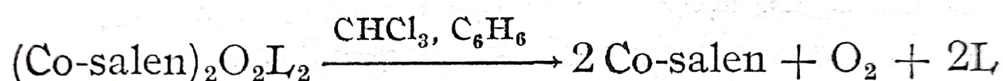
Fig. 10.V. Co-Salen.

Co(II) : O_2 este de 2 : 1, formează nu numai complecșii Co-salen, ci și complecșii cu alte baze Schiff, cu poliamine alifatice ca etilendiamina [19], dietilentriamina, trietilentetramina etc, și cu aminoacizi. Reacția generală după care se formează aducți ai Co-salen, în solvenți aprotici și în raport 2 : 1 este următoarea :



$$2\text{Co-salen} + O_2 + 2L \rightarrow (\text{Co-salen})_2O_2L_2$$

L fiind o moleculă a unui alt ligand decît salen, sau solvent, care poate ocupa o poziție coordinativă în jurul ionului de cobalt. Dintre solvenții care permit această reacție se pot aminti dimetilformamida, dimetilsulfoxidul (DMSO), piridina etc., culoarea aducților variind de la roșu-brun, în cazul piridinei, la negru, în cazul DMF și DMSO. Oxigenul conținut în aducții formați în DMF și DMSO poate fi eliminat în vid la 80 °C sau adăugînd soluțiilor lor cloroform sau benzen :



$$(\text{Co-salen})_2O_2L_2 \xrightarrow{CHCl_3,\ C_6H_6} 2\,\text{Co-salen} + O_2 + 2L$$

Unii complecși ai Co(II) transportori de oxigen, cu structură dimeră, pot fi slab paramagnetici, fiind formulați ca aducți binucleari cu punte superoxo ($-O_2^-$), gruparea Co—O—O—Co fiind aproape coplanară. În schimb, alții sînt diamagnetici, de asemenea binucleari, cu punte peroxo, dar în acest caz gruparea Co—O—O—Co nu este coplanară. În ceea ce privește aducții formați de Co-salen în raport de 2 : 1, ei se pot formula ca în fig. 10.VI.

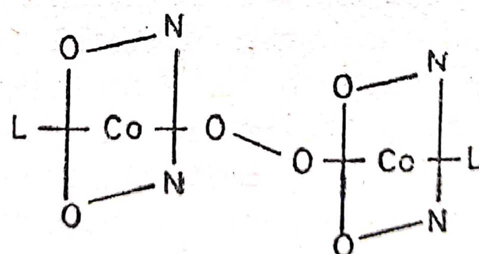


Fig. 10.VI. Aduct $(\text{Co-salen})_2$-O_2-$(\text{DMF})_2$; L = DMF.

Determinîndu-se lungimea legăturii O—O, din punte s-a constatat că aceasta este mai mică (1,35 Å) decît aceea a legăturii peroxidice (1,48 Å), prin urmare structura electronică a O_2 din punte diferă de aceea a grupărilor peroxo și superoxo, probabil din cauza unui transfer de sarcină (parțial) de la Co(II) la oxigen, ceea ce este suficient pentru a asigura oxidarea reversibilă [20]. După alți autori [21] configurația grupării Co—O—O—Co în aducții discutați, se poate reprezenta ca un

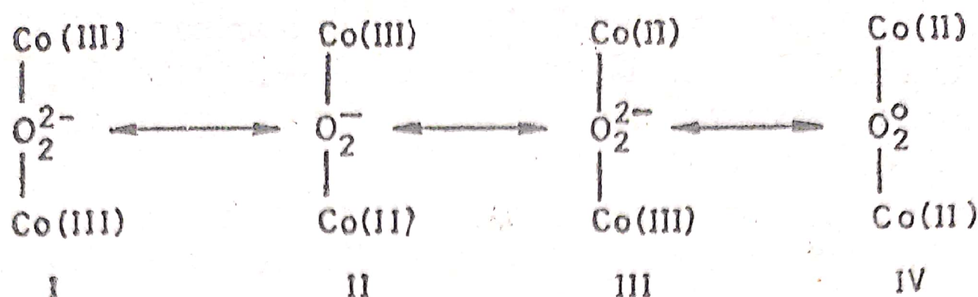


Fig. 10.VII. Structuri limită ale aducților Co-salen-O_2.

hibrid al unor structuri limită (I—IV) Fig. 10.VII. Structura I are o contribuție mai mare la starea fundamentală, deși aducții se pot descrie mai bine dacă ei conțin Co(II) și Co(III), respectiv dacă cobaltul se află într-o stare intermediară între cele două valențe.

Desigur că problema stării moleculei de oxigen în aducții pe care-i formează transportorii de oxigen, ca și forța legăturii Me—O_2, deci caracterul reversibil sau ireversibil al absorbției oxigenului molecular, interesează în mod deosebit. De aceea s-au efectuat determinări magnetice, RES, de lungime a legăturii O—O, spectre IR etc. Așa, de exemplu, datele magnetice pentru aducții 1 : 1 arată că valorile momentelor magnetice sînt caracteristice Co(II) coordinat octaedric, iar datele RES arată o localizare a electronului impar la molecula de oxigen, ceea ce pledează pentru structura de superoxizi ai aducților cercetați.

Pe de altă parte, din datele spectrale în IR se pot trage concluzii privitoare la efectul coordinării asupra moleculei de oxigen. Astfel, în spectrele aducților în raport de 1 : 1, apare o bandă caracteristică vibrației de valență a legăturii O—O din molecula de oxigen coordinată, care nu apare în spectrul oxigenului liber, deoarece legătura O—O din acesta este inactivă. Acest fapt pledează pentru o activare a acestui mod de vibrație prin coordinare. În sfîrșit, această bandă nu apare în spectrele aducților în raport de 2 : 1, deoarece vibrația de valență caracteristică legăturii O—O este inactivă în aranjamentele simetrice [22].

Deși literatura este bogată în studii privitoare la structura aducților, formați de complecșii transportori de oxigen, natura legăturii Me—O este încă insuficient lămurită. După unii cercetători [23], aducții se pot reprezenta astfel:

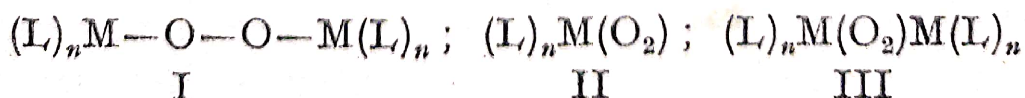


Fig. 10.VIII. Reprezentări ale aducților complex-O_2.

Formula I este caracteristică compuşilor peroxidici, distanţa O—O fiind de 1,41 Å, iar legătura Me—O fiind o legătură σ. Complecşii transportori de oxigen ai căror aducţi răspund formulei I, fixează oxigenul ireversibil.

Formula II este caracteristică aducţilor în care oxigenul este coordinat de un singur ion metalic, distanţa O—O variind între 1,30 Å şi 1,66 Å. Fixarea oxigenului în aceşti aducţi poate fi reversibilă sau ireversibilă. Dacă oxigenul se fixează ireversibil aducţii sînt de tip peroxidic, legătura Me—O fiind o legătură σ (Fig. 10.IX-a). Dacă oxigenul este legat reversibil, legătura Me—O este o legătură π, (Fig. 10.IX-b). Dealtfel, o astfel de legătură a fost propusă şi pentru legătura Fe—O, ce se realizează la fixarea oxigenului de către hemoglobină, în timpul formării oxihemoglobinei. Şi în cazul aducţilor ce răspund formulei II, apare în spectrul IR o bandă caracteristică vibraţiei de valenţă O—O a moleculei de oxigen coordinat, tot în domeniul spectral de 900—800 cm^{-1}.

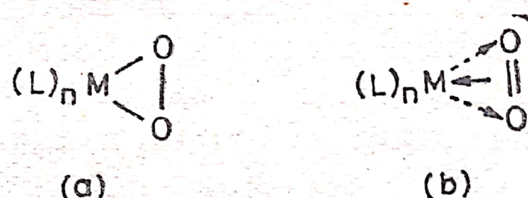


Fig. 10.IX. Legături Me—O în aducţi complex-O_2.

În sfîrşit, formula III este caracteristică aducţilor complecşilor binucleari, în care fixarea oxigenului este reversibilă, dar în aceste cazuri se pare că nu există date privitoare la natura legăturii Me—O. Dealtfel, în spectrele IR ale acestor complecşi nici nu apare banda de la 900—800 cm^{-1}, caracteristică vibraţiei de valenţă O—O.

De regulă, legarea reversibilă a oxigenului este posibilă dacă legătura Me—O_2 este mai slabă, deci legătura O—O mai puternică (distanţa dintre atomii de oxigen este evident în acest caz mai mică). Invers, legarea ireversibilă a oxigenului este asociată cu o legătură Me—O_2 mai puternică, deci legătura O—O este mai slabă (iar distanţa O—O mai mare). În cazul fixării reversibile a oxigenului de către unii complecşi transportori de oxigen, prin trecerea unui curent de gaz inert, cum sînt azotul sau argonul, prin soluţia aducţilor, sau prin încălzirea sau agitarea acestor soluţii la presiune scăzută (în vid), oxigenul este eliberat, ceea ce nu se întîmplă în cazul aducţilor ireversibili.

Un fapt interesant, ce trebuie remarcat, este reactivitatea deosebită faţă de reducători a oxigenului coordinat în aducţi

[25, 26]. Printre aducții cei mai reactivi se numără aceia ai unor complecși transportori de oxigen ai paladiului, nichelului platinei și cobaltului. Așa, de exemplu, aducții unor complecși ai Pd(II) și Ni(II) catalizează oxidarea unor trifenilfosfine [27] și a izocianurii de terț-butil [28]. Aductul cu oxigenul al Co-salen catalizează oxidarea unor fenoli [29] (rezultînd, în soluții metanolice sau cloroformice, benzochinonă, ca produs principal), iar unii complecși ai platinei catalizează oxidarea CO, SO_2, NO etc [30, 31].

Așa cum s-a mai arătat, problema sintezei, structurii și a însușirilor fizico-chimice ale complecșilor, capabili să fixeze reversibil oxigenul, este studiată de numeroși cercetători [32—35], deoarece acești complecși sînt considerați ca modele simple pentru pigmenții respiratori, transportori de oxigen, sau pentru enzimele implicate în procesul de transfer al oxigenului, deoarece aducții cu oxigenul sînt considerați ca stări intermediare de oxidare (vezi Fig. 10.VII).

Pe de altă parte, pigmenții respiratori naturali [36], ca hemoglobina și mioglobina, sînt complecși porfirinici ai Fe(II), care, împreună cu unele enzime, participă la lanțul oxidativ celular. Fixarea oxigenului de către pigmenții respiratori se face prin ionul Fe(II), legat de gruparea imidazol a histidinei (din poziția 5). Din punct de vedere al modului de fixare a oxigenului, pigmenții respiratori naturali se comportă diferit și anume, pigmenții hemoproteinici formează aducți în care raportul $Fe : O_2$ este de 1 : 1, deci cu structură monomeră, iar cei neheminici formează aducți dimeri în raport de 2 : 1.

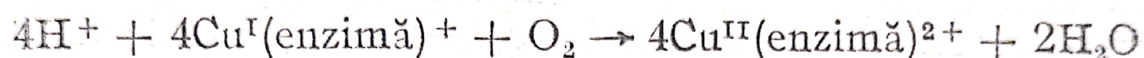
În aceeași ordine de idei, este de remarcat că sistemele enzimatice [36] transportă oxigenul direct la țesuturi, dar în funcție de mecanismul de transfer al oxigenului, acestea se împart în trei grupe:

a. Prima grupă cuprinde transferazele oxigenului (pirocatecaza, triptofanoxidaza și acidoxidaza homogentisică), care sînt activate de ionul Fe(II) și care are rolul de a rupe dublele legături cu ajutorul oxigenului activat. Aceste enzime sînt comparabile cu oxihemoglobina, deoarece ele conțin, ca și aceasta, ionul perferil FeO_2^{2+} (complexul III). Se pare că legarea Fe(II) de enzimă se realizează prin coordinarea fierului la grupele tiolice pe care aceasta le conține.

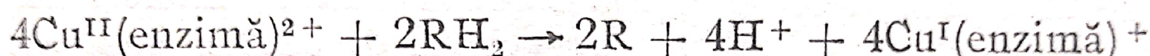
b. A doua grupă cuprinde enzimele asociate reacțiilor de hidroxilare, cum este, de exemplu, tirozinaza, o proteină cuproasă al cărui aduct dimer este $-CuO_2Cu^{2+}$, sau complexul cupros II, analog complexului III al feroenzimei. Se pare că în reacțiile de hidroxilare sînt implicați atît complexul

$III-MO_2^{n+}$, cît și complexul $II-MO^{n+}$, adică la început enzima fixează oxigenul, formîndu-se complexul III, iar apoi, prin interacțiunea cu reducătorul, se formează complexul II, sub acțiunea căruia se produce hidroxilarea olefinelor și a compușilor aromatici.

c. Grupa a treia cuprinde transferazele electronice, adică proteinele cuproase care nu sînt transportori direcți ai oxigenului, ci ai perechilor de electroni din țesuturile vii. În acest fel, ambii atomi de oxigen sînt reduși cu formarea apei, electronii fiind preluați de la substrat:



$$4H^+ + 4Cu^I(\text{enzimă})^+ + O_2 \rightarrow 4Cu^{II}(\text{enzimă})^{2+} + 2H_2O$$



$$4Cu^{II}(\text{enzimă})^{2+} + 2RH_2 \rightarrow 2R + 4H^+ + 4Cu^I(\text{enzimă})^+$$

Din această grupă fac parte laccaza sau oxidaza acidului ascorbic, care conține 4 ioni de Cu(I)/mol și care reacționează cu o moleculă de oxigen, citocromcoenzimele (sisteme porfirinice ce conțin fier) etc.

Complecșii sintetici capabili de preluarea reversibilă a oxigenului molecular [14, 35, 37] pot forma aducți dimerici (majoritatea de tip μ-peroxi) cu punte de oxigen, în care raportul de combinare $M:O_2$ este 2 : 1, sau aducți monomerici în raport de $M:O_2 = 1:1$, ca și în sistemele naturale.

După geometria moleculei aducților în raport cu ionii metalelor [37], aceștia se împart în aducți cu punte de oxigen, aducți simetrici și asimetrici (Fig. 10.X).

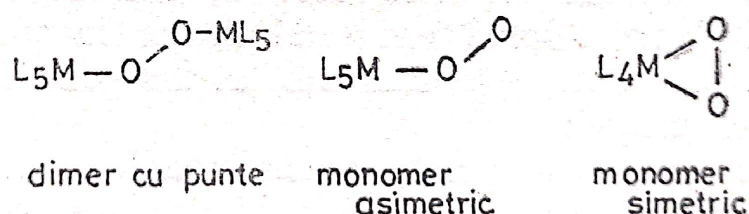


Fig. 10.X. Tipuri de aducți funcție de geometria moleculei.

Există numeroși complecși sintetici transportori de oxigen, dar majoritatea modelelor conțin ioni de cobalt, fiind mai asemănătoare sistemelor naturale.

În afară de complecșii Co(II), discutați anterior, merită a fi menționați complecșii Co(II) cu imidazol și aminoacizi (Co-imidazol-aminoacid) [38, 39], capabili să preia reversibil oxigenul, atît în soluții apoase cît și în dimetilformamidă. Dintre aminoacizii utilizați se pot aminti glicina, alanina, sarcozina, valina, norvalina, izoleucina (aminoacizi neutri), serina, homoserina,

prolina, hidroxiprolina, metionina, citrulina, lisina, glutamina, ornitina, arginina, asparagina (deci aminoacizi conținînd alte grupări funcționale).

Aducții acestor complecși cu oxigenul (de culoare cafenie intensă) se pot obține relativ ușor. Spre exemplu, ionul Co(II) formează cu imidazolul un complex intern polimer $[Co(imid)_2]_n$, care se dizolvă într-o soluție apoasă a unui aminoacid sau dipeptidă conținuți în exces (excesul de aminoacid determină deplasarea echilibrului în sensul formării aductului) și apoi se trece prin soluție aer sau oxigen aproape de 0°C cînd se formează aductul $[Co(Himid)(R-CH(NH_2)-COO)_2]_2 \cdot O_2$, Fig. 10.XI. În mod



similar se comportă și $[Co(Himid)(H_2O)_2CO_3]$.

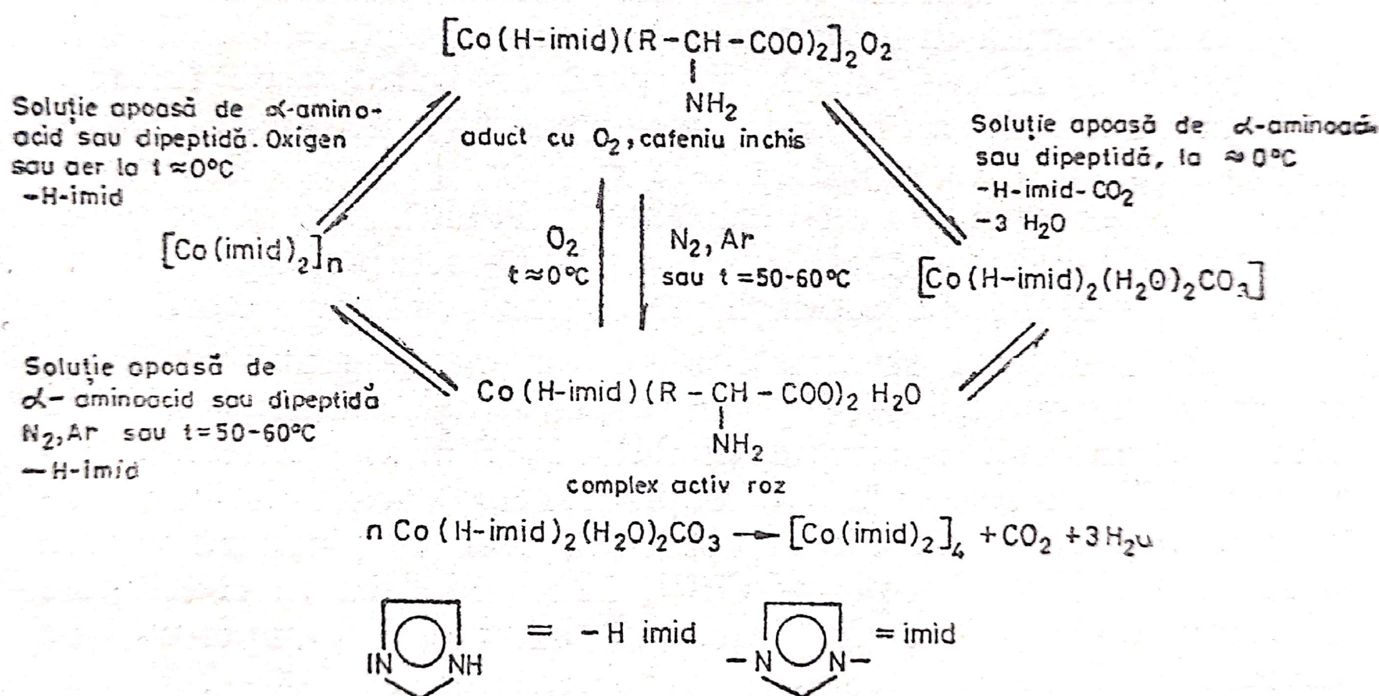


Fig. 10.XI. Schema reacțiilor de formare a complecșilor activi și oxigenați (după B. Jezowska — Trzebiatowska).

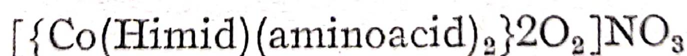
Așa cum rezultă din Fig. 10.XI, obținerea complexului activ al Co(II) se poate realiza fie în atmosferă de gaz inert (azot sau argon), fie în atmosferă de oxigen la 50—60°C, condiții în care oxigenul din aducți este deplasat. Rezultă, de asemenea, că aducții cu oxigenul se formează numai la temperatură scăzută de aproape 0°C, cînd se înlocuiește cu oxigen fie o moleculă de imidazol, fie una de solvent.

Acești complecși au o capacitate de fixare rapidă a oxigenului, mai mare decît complecșii similari ai histidinei, iar reversibili-

tatea procesului de fixare este perfectă, permițînd repetarea ciclului de fixare-cedare a oxigenului, de foarte multe ori fără a se putea observa o oxidare reversibilă a Co(II) la Co(III). Stabilitatea la oxidare a ionului Co(II), depinde de natura aminoacizilor implicați în complecșii săi. Spre exemplu, complecșii cu dipeptide sînt mai puțin stabili, iar complecșii cu γ-aminoacizi sau cu acizi monoaminodicarboxilici nu formează aducți cu oxigenul. Prin urmare numai complecșii cobaltului cu α-aminoacizi pot fixa reversibil oxigenul și sînt stabili față de oxidarea reversibilă a Co(II). În sfîrșit, dacă în poziția β a aminoacidului există un radical aromatic sau heterociclic, capacitatea de fixare a oxigenului dispare, probabil datorită efectului inductiv al acestora, asupra densității electronice a α-aminoacidului.

Un rol important în funcționarea acestor complecși, ca transportori de oxigen, îl are bazicitatea imidazolului. Prin înlocuirea acestuia cu baze mai slabe, ca pirazolul, benzimidazolul sau bazele purinice, complecșii pierd capacitatea de fixare a oxigenului. Pe de altă parte, spre deosebire de multe sisteme enzimatice, în care oxigenul este inactiv, aducții complecșilor metalici cu oxigenul au o reactivitate deosebită. Așa, de exemplu, aducții oxidează cu viteză mare acidul L-ascorbic, hidrochinona și alți reducători, la produșii de oxidare corespunzători.

Pentru studiul structurii aducților cu oxigenul pe care-i formează complecșii Co(II) cu imidazol și aminoacizi, s-au făcut determinări spectrale în IR, RES și magnetice. Spectrele în UV, executate la 0 °C, cuprind benzi caracteristice transferului de sarcină (la 345 și 400 nm), ceea ce pledează pentru o structură dimeră μ-peroxi-Co^{III}. Prin oxidarea în continuare a complecșilor cu Ce(IV), rezultă complecși μ-superoxi, de culoare violetă, cu absorbții caracteristice la 700—730 nm. De aceea se pare că formula acestor complecși este:



$$[\{Co(Himid)(aminoacid)_2\}2O_2]NO_3$$

Acest lucru rezultă și din spectrele RES (executate pe aduct după extragerea sa cu alcool izoamilic-acetonă), care corespund punții superoxi, cele 15 linii ale structurii superfine fiind datorate cuplării electronului neîmperecheat, în punte, cu doi nuclei de ^{59}Co echivalenți (Fig. 10.XII).

În sfîrșit, determinările polarografice arată o undă ce corespunde reducerii punții μ-peroxi, indicînd totodată prezența Co(III) în aducți, ceea ce pledează pentru predominanța dimeru-

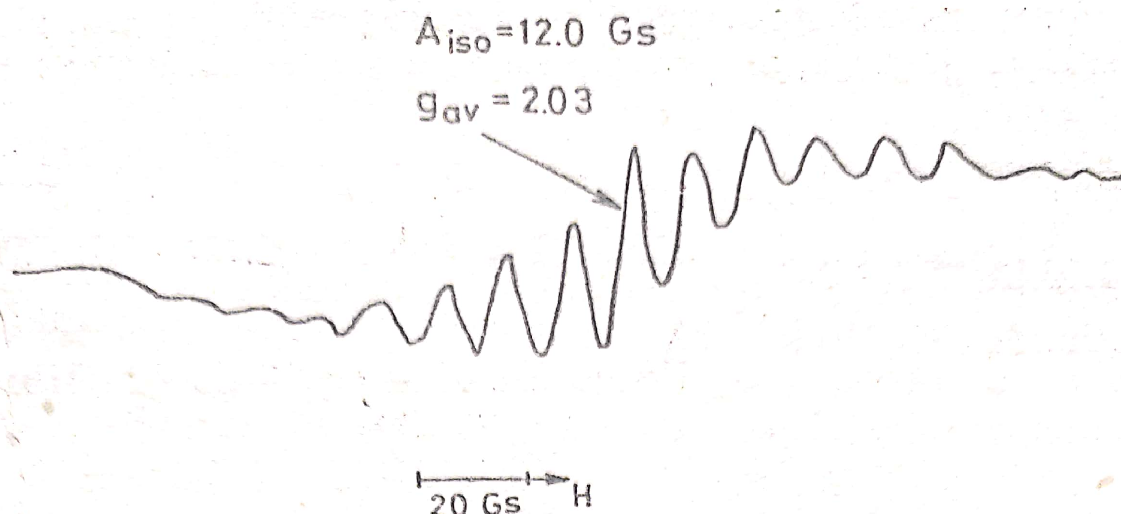


Fig. 10.XII. Spectrul RES al speciilor μ-peroxi (după B. Jezowska — Trzebiatowska).

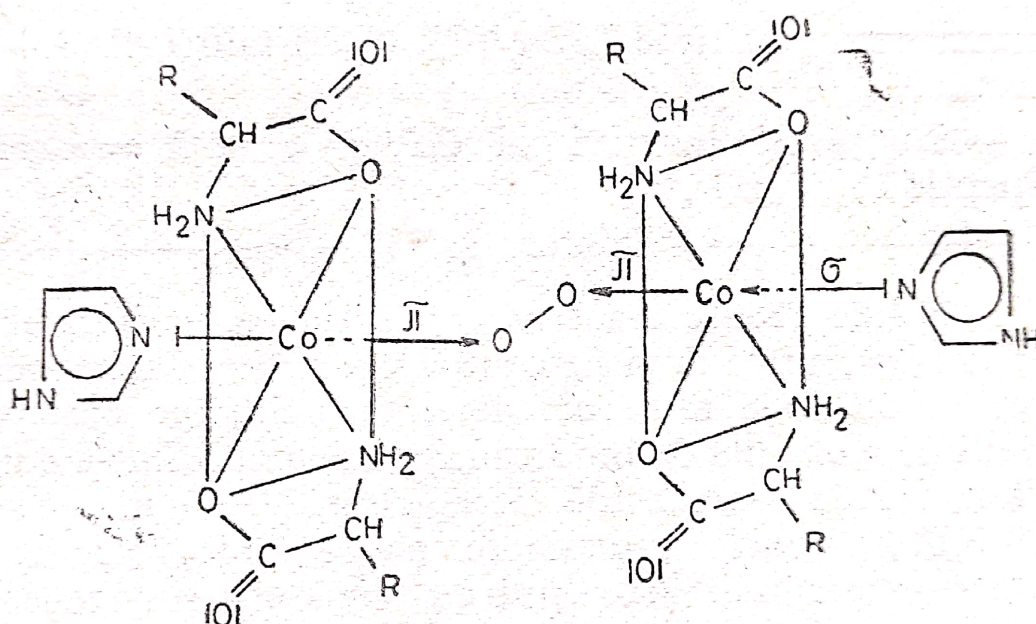
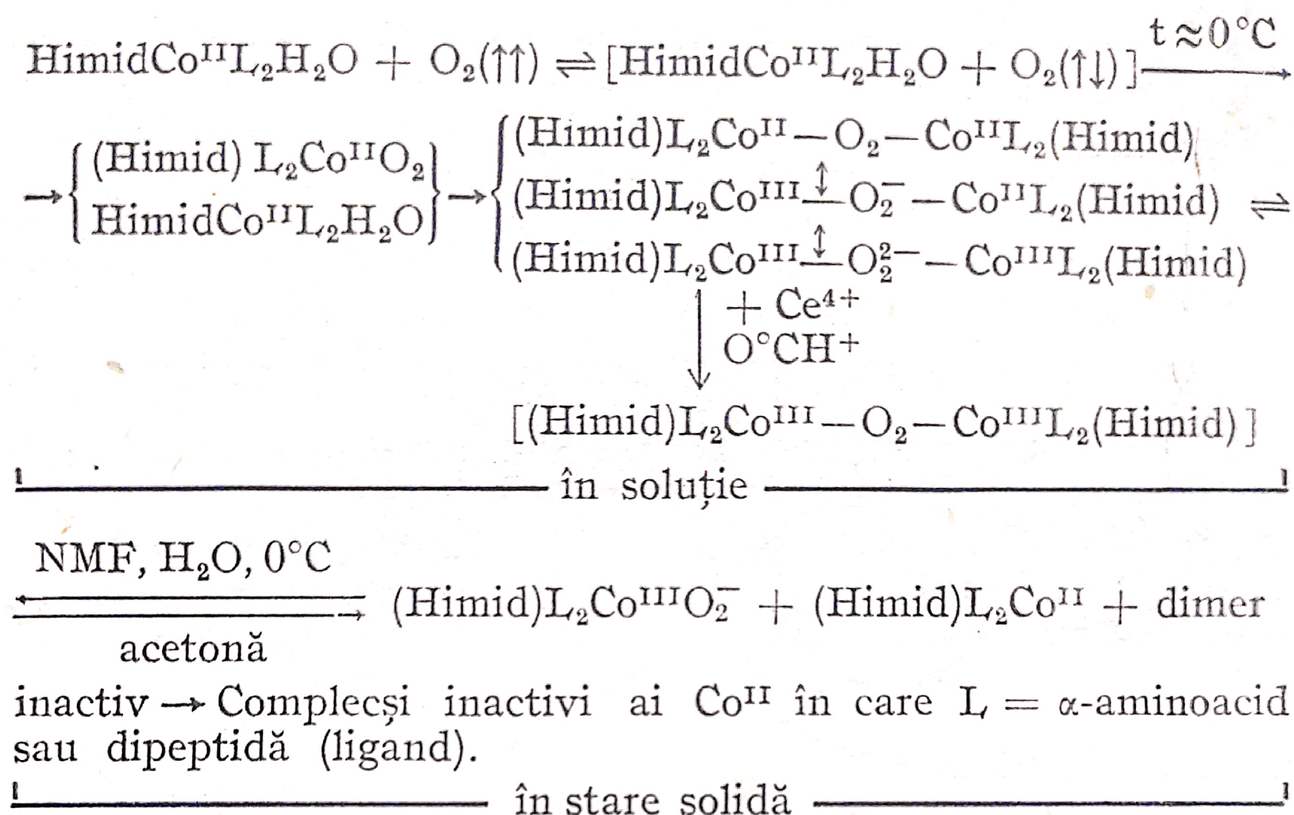


Fig. 10.XIII. Structura dimerului în soluție (după B. Jezowska — Trzebiatowska).

lui în soluție, fapt confirmat și de alți autori [40] (Fig. 10. XIII).

Adăugînd acetonă la soluția apoasă, s-a obținut și aductul în stare solidă, care cedează ireversibil oxigenul, rezultînd un complex inactiv al Co(II). Aductul solid conține și forma monomeră, așa cum rezultă din datele magnetice (momentul magnetic corespunde aproximativ unui electron impar/atom de cobalt) și din spectrele RES. Dar, este mai probabil că aductul solid este un amestec de trei forme ce se găsesc în echilibru și anume forma dimeră, forma monomeră ce corespunde complexului $L_5Co^{III}O_2^-$ (specia superoxi) și un complex al Co(II) fără oxigen.

Formarea aducților prin fixarea oxigenului pare să decurgă (în soluție și în stare solidă) după schema următoare:



Din studiile făcute s-a tras concluzia că în formele monomeră și dimeră, precum și în complexul activ, planul ecuatorial este format de două molecule de aminoacid, iar poziția axială trans, față de molecula de imidazol, este ocupată fie de o moleculă de oxigen, fie de o moleculă de solvent. Așa cum rezultă din Fig. 10.XIV, formele monomere ale complecșilor de Co(II) discutați se aseamănă foarte mult cu pigmenții respiratori hemici naturali.

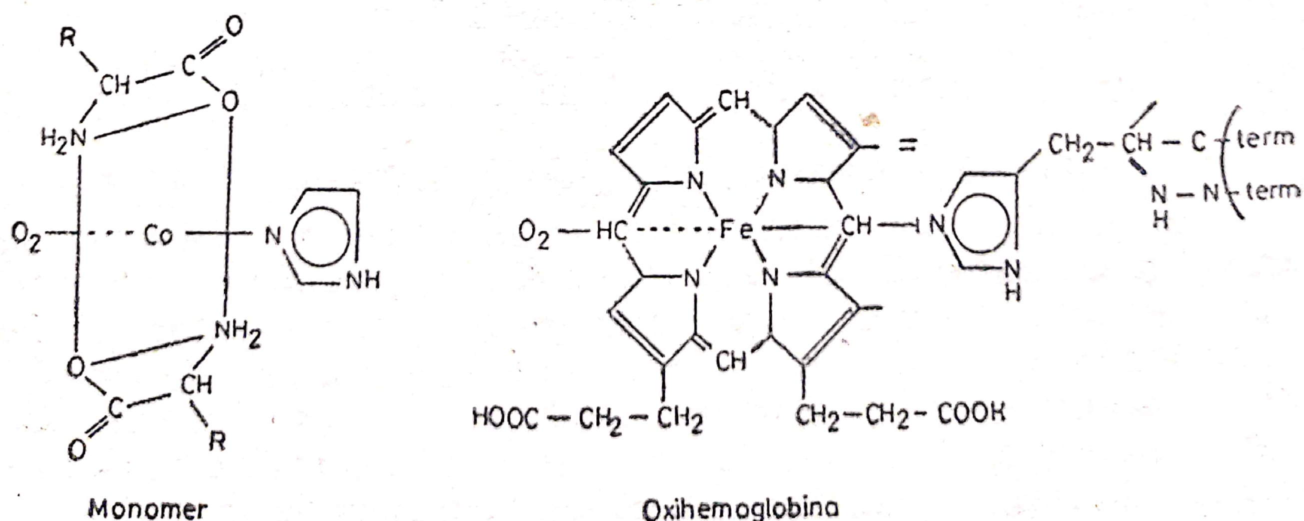


Fig. 10.XIV. Asemănarea aducților complecși-O_2 cu cei ai pigmenților respiratori heminici (după B. Jezowska — Trzebiatowska).

În chelații transportori de oxigen discutați, molecula de aminoacid sau aceea de dipeptidă, care complexează cobaltul, îndeplinesc același rol ca și porfirina în hem, care coordinează fierul. Pe de altă parte, imidazolul este un donor σ mai puternic decît molecula solventului. Din acest motiv el produce o deformare a orbitalilor d ocupați (d_{xy} și d_{yz}) spre deosebire de molecula de solvent donor σ mai slab. Această deformare se datorește rezistenței electrostatice (Fig. 10.XV) și se numește efect trans al moleculei de imidazol, iar orbitalii devin astfel orbitali π-donori. Pe de altă parte, moleculele de oxigen acti-

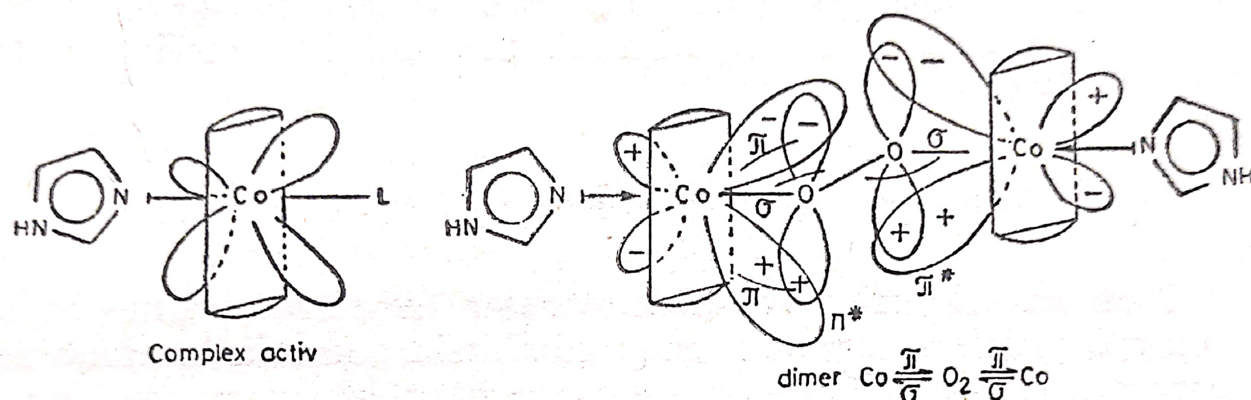


Fig. 10.XV. Efectul trans al moleculei de imidazol (după B. Jezowska — Trzebiatowska).

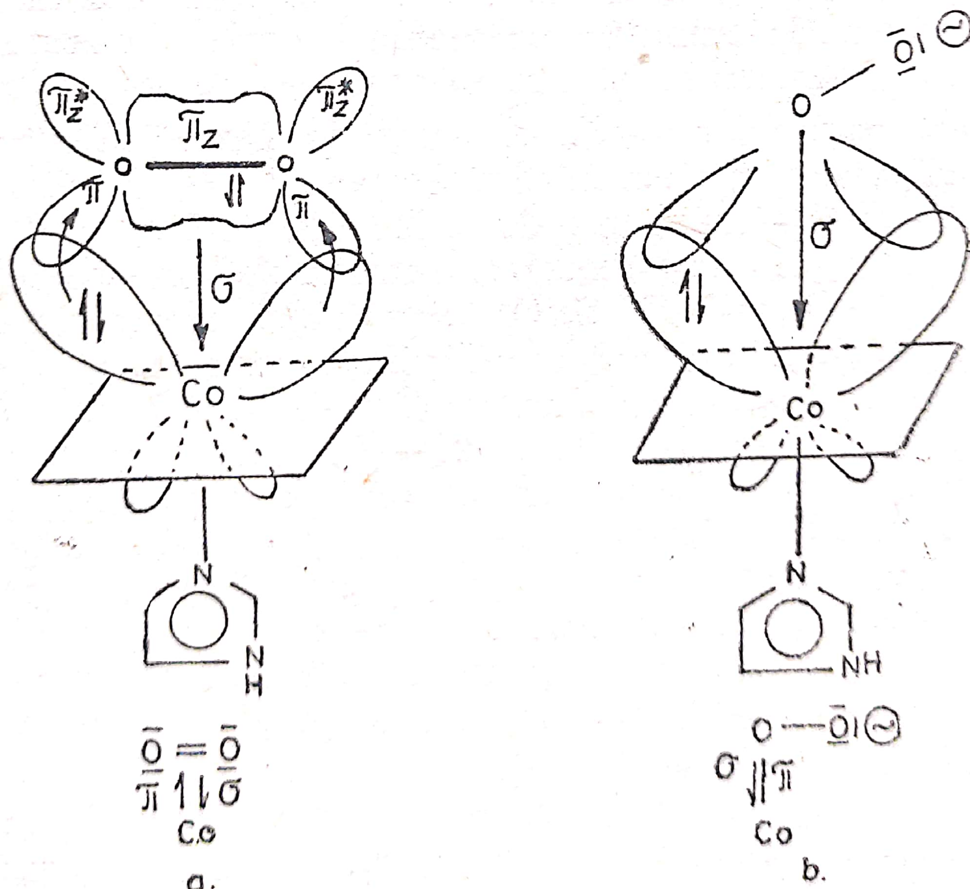


Fig. 10.XVI. Modele pentru aducții monomerici, (a) după Griffith și (b) după Pauling.

vate, cu orbital liber π-acceptor și π^* de antilegătură, pot determina delocalizarea electronilor din orbitalii π-donori ai cobaltului la orbitalii π^* de antilegătură ai oxigenului, rezultînd legături π. Concomitent se elimină molecula de solvent, formîndu-se legătura σ între perechea de electroni sp^2 de nelegătură a oxigenului și orbitalul d_{z^2} al Co(II). În unele condiții, (temperatură) se poate produce transferul de sarcină înapoi la cobalt, concomitent cu înlocuirea oxigenului de către o moleculă de solvent. Pentru un aduct monomer al oxigenului, sînt posibile două geometrii ale poziției atomilor față de planul ecuatorial, și anume aranjarea simetrică conform modelului lui Griffith [41] și aranjarea unghiulară, după modelul lui Pauling [42] (Fig. 10.XVI).

10.2.2. Complecși fixatori de azot

Problema fixării azotului molecular de către sisteme complexe macrociclice naturale, ca și conversia acestuia în amoniac, substanță primară deosebit de importantă în formarea proteinelor, este de asemenea incomplet lămurită. Studiile făcute și cele care se fac în prezent sînt numeroase. În orice caz, absorbția azotului de către bacteriile azotogene se pune în legătură cu reducerea sa la amoniac, pe seama energiei eliberate în procesele de oxidare a substanțelor organice.

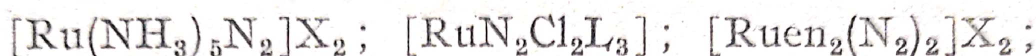
Azotul molecular poate fi fixat de către unii complecși ai unor metale tranziționale din grupele VI și VIII în starea de oxidare 1+ și 2+ cum sînt: Cr(I), Ru(II), Os(II), Co(II), Fe(II), Ir(I) sau chiar de către metale în starea de oxidare zero, cum este cazul Mo(O), W(O), Ni(O), Pt(O). Chimiosorbția azotului și reacția sa cu hidrogenul la suprafața unor metale (exemplu Fe la sinteza industrială a amoniacului) se explică prin formarea intermediară a unor complecși $Me-N_2$. Acest proces ar putea fi, alături de altele, luat și el în considerare ca model pentru explicarea fixării biologice a azotului. Pe de altă parte, se știe că azotul molecular coordinat are o reactivitate mai mare decît aceea a azotului necoordinat, ceea ce s-ar putea explica prin modificarea densității de electroni în orbitalii de energie mare, produsă de coordinare, ceea ce ar corespunde în fond unei stări excitate a moleculei de azot.

Primul complex capabil să fixeze azotul, citat în literatură, a fost un complex al Ru(II), al cărui aduct cu azotul este $[Ru(NH_3)_5N_2]Cl_2$ [43]. Aducții de acest fel se obțin fie prin fixarea directă a azotului molecular de către unii complecși ai metalelor



tranziționale, fie prin reacția complecșilor cu amoniac, hidrazină, azide organice, care pot elibera azot molecular prin descompunere.

Aducții cu azot molecular, formați de către unii complecși ai metalelor tranziționale, pot fi mononucleari sau binucleari, L_nMN_2 sau $(L_nM)_2(N_2)$, respectiv $L_nM—N = N—ML_n$. Spre exemplu, aducții complecșilor Ru(II) sînt de regulă mononucleari, avînd una din compozițiile:



$$[Ru(NH_3)_5N_2]X_2\,;\quad [RuN_2Cl_2L_3]\,;\quad [Ruen_2(N_2)_2]X_2\,;$$



$$[RuN_2(PPh_3)_3H_2]$$

în care:

$$X = Cl^-,\ Br^-,\ I^-,\ BF_4^-,\ PF_6^-\ \text{iar}\ L = H_2O,\ NH_3,\ Py\ \text{etc.}$$

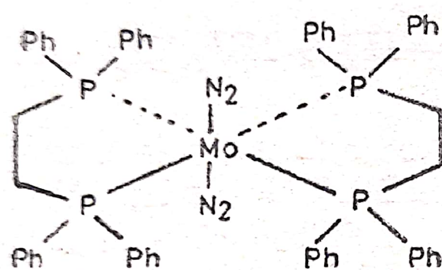
Plecînd de la $RuCl_3$ sau ruteniu-acvopentamină, prin tratare cu hidrat de hidrazină [43] (acesta reduce Ru(III) la Ru(II)—), azidă [44], amoniac [45] azot molecular [46] la presiune normală (sau prin alte metode), se obțin aducți de forma $[Ru(NH_3)_5N_2]X_2$, izolabili în stare cristalină. Acești aducți au o stabilitate termică relativ mare, în schimb, în soluție, azotul este mai labil putînd fi înlocuit cu alți liganzi (deci fixarea lui este reversibilă în anumite condiții). Compoziția acestor aducți a fost confirmată printre altele și prin spectroscopie în IR.

În sfîrșit, este de subliniat că au fost obținuți aducți cu azot molecular (mono și binucleari) ai unor complecși ai osmiului [47], fierului [48], cobaltului [49], nichelului [50], iridiului [51], molibdenului [52], paladiului [53] etc.

Sistemele naturale implicate în absorbția azotului sînt fie metaloenzime, ca nitrogenaza și hidrogenaza, fie transportori de electroni (cu potențial redox foarte mic), cum este feredoxina. Aceasta din urmă este o proteină care conține fier în formă nehemică, fierul avînd rol în formarea legăturii cu substratul, contribuind în același timp la transferul de electroni. Nitrogenaza (din Azobacter vinelandi) conține molibden, fier, cisteină, grupe SH, în raport de 1 : 20 : 20 : 15. Fixarea enzimatică a azotului se datorește coordinării azotului molecular la cei doi ioni metalici din nitrogenază, urmată de reducerea azotului la amoniac.

Plecînd de la constatarea că sistemele complexe macrociclice naturale, fixatoare de azot, conțin Mo, Fe etc., unii cercetători au încercat sintetizarea unor complecși ai acestor metale,

capabili să absoarbă azot [52] și să elimine amoniac în mod asemănător modelelor enzimatice. Pentru aceasta au fost amestecați complecși ai molibdenului cu complecși ai fierului: $[Mo(N_2)(PPh_3)_2(C_6H_5-CH_3)]$ și $[Fe(H_2)(PPh_3Et)_3]$ (complex hidrură), dar în loc să se elimine amoniac, s-a eliminat azot. O altă încercare s-a făcut prin amestecarea unui complex molibden-$(N_2)_2$ cu fier-ditiolen [54] (compus de tip feredoxină) (Fig. 10.XVII), însă numai o mică parte din azotul fixat a fost redus la amoniac; dealtfel, după unii autori[55], acest sistem este considerat inactiv.



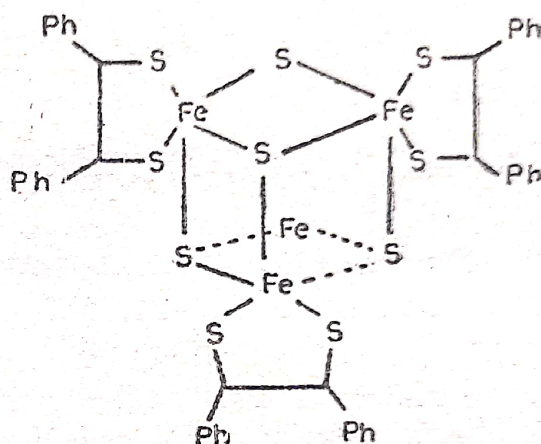


Fig. 10.XVII. Complex Mo-dinitrură (a) și Fe-ditiolen (b) (după B. Jezowska — Trzebiatowska).

S-au făcut și alte încercări mai izbutite [56—58], în care s-au utilizat $FeCl_3 + Mg + THF$ (tetrahidrofuran) $+ N_2$ precum și $MoOCl_3 \cdot 2THF + Mg + THF + N_2$ constatîndu-se că magneziul [58] reduce Fe(III) la stări de oxidare inferioare, care pot fixa azotul molecular sub forma complexului $[THF_{1,5}MgCl_3Fe]_2N_2$. Prin amestecarea acestui complex format în sistemul cu $FeCl_3$, cu $MoOCl_3 \cdot 2THF$, rezultă un produs cu 8,5% N, în care proporția Mo : N : Mg este de 1 : 4 : 5. Acest azot coordinat în cei doi complecși este redus, astfel că, prin hidroliza produșilor de reducere, rezultă hidrazina, din complexul cu fier, respectiv amoniacul și hidrazina, din complexul cu molibden. Se pare că magneziul reduce azotul, deoarece magneziul formează compuși pseudo-Grignard, de tipul Fe—MgCl. Pe de altă parte, în acest proces, THF are un rol foarte important, fiind solvent și reacționînd totodată cu $FeCl_3$ și $MoOCl_3$ în prezența magneziului (se formează hidrocarburi), cînd rezultă compuși pseudo-Grignard, care coordinează și reduc azotul [57, 56].

10.2.3. Chelați modele pentru activitatea enzimatică

S-a arătat deja în capitolele precedente că activitatea enzimatică este strîns legată de prezența unor ioni ai metalelor tranziționale și că în general unii complecși chelați ai acestor ioni, influențează considerabil acțiunea enzimelor.

Acțiunea unei enzime, după apropierea substratului (peptidei), depinde de deplasarea unei sarcini negative în centrul activ, urmată de ruperea legăturii peptidice —CO—NH—, rezultînd un acid și o amină, după care sarcina trebuie să revină la poziția inițială.

Modelele pentru legături metal-proteină, metal-enzimă și mai ales metal-enzimă-substrat, sînt chelați sintetici simpli sau micști, ai unor ioni ai metalelor tranziționale, în special Cu(II), cu aminoacizi și polipeptide sau complecși micști ai acestor liganzi cu 2,2′-dipiridil. Dintre aminoacizi au fost utilizați glicina, alfa și beta alanina, DL-valina, DL-homocisteina, L-metionina, L-leucina, asparagina, DL-ornitina, histamina etc. Au mai fost obținuți complecși ai Cu(II) cu peptide ca glicil-glicina, DL-alfa-alanina-DL-alfa-alanina, precum și unii complecși micști ca, de exemplu, Cu(DL-alfa-alanină) (2,2′-dipiridil) · $2H_2O$ etc.

În legătură cu acești complecși s-au intreprins cercetări privitoare la structura lor electronică și moleculară, bazate pe determinări de rezonanță electronică de spin, de susceptibilitate magnetică, spectre IR etc. Spectrele RES indică pentru toți complecșii studiați starea monomeră în soluție apoasă și în etilenglicol (inclusiv în soluții congelate). În schimb, în stare solidă, interacțiunile spin-spin indică starea de dimer, la majoritatea complecșilor (legăturile σ fiind practic la fel de puternice în toți complecșii, dar legăturile π au tării diferite).

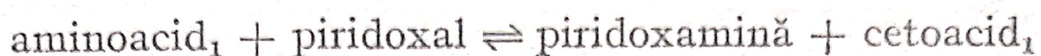
Deoarece la majoritatea complecșilor menționați sînt evidente interacțiunile spin-spin, iar legăturile σ au aproximativ aceeași tărie, în timp ce legăturile π au tării diferite, se pare că, complecșii Cu(II) studiați au efecte diferite asupra centrului activ al enzimei. Unii dintre acești complecși ușurează migrarea sarcinii, iar alții, combinîndu-se cu centrul activ al enzimei, inhibă migrarea acesteia.

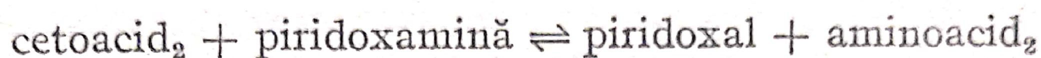
10.2.4. Alți chelați utilizați ca modele

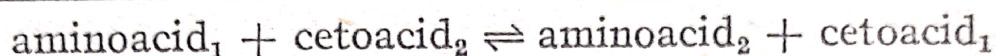
În afară de complecșii sintetici cu rol de fixatori de oxigen sau de azot, au mai fost studiați și alți complecși, utilizați ca modele pentru reacțiile de transaminare, pentru substanțele

cancerigene, pentru studiul proceselor de depozitare, control şi transport a fierului etc.

Reacţiile de transaminare, deosebit de importante în metabolismul proteic, sînt catalizate în organism de enzime şi decurg astfel:


$$\text{aminoacid}_1 + \text{piridoxal} \rightleftharpoons \text{piridoxamină} + \text{cetoacid}_1$$


$$\text{cetoacid}_2 + \text{piridoxamină} \rightleftharpoons \text{piridoxal} + \text{aminoacid}_2$$


$$\text{aminoacid}_1 + \text{cetoacid}_2 \rightleftharpoons \text{aminoacid}_2 + \text{cetoacid}_1$$

Transaminarea enzimatică este catalizată de o enzimă care conţine piridoxal (vitamina B_6) [59], care, aşa cum rezultă din reacţiile de mai sus, nu se consumă, ci joacă rol de activator al moleculei de aminoacid, prin formarea cu acesta de aldimine, respectiv baze Schiff, în prezenţa unei enzime.

Reacţiile de transaminare neenzimatică decurg tot pe baza formării piridoxaminei, din aminoacizi şi piridoxal, sub acţiunea ionilor de Fe(III) şi Cu(II), care joacă rolul enzimei [59—61]. Această acţiune a ionilor metalici se explică prin labilizarea atomului de hidrogen din poziţia α a restului de aminoacid, urmată de formarea piridoxaminei [59] (Fig. 10.XVIII).

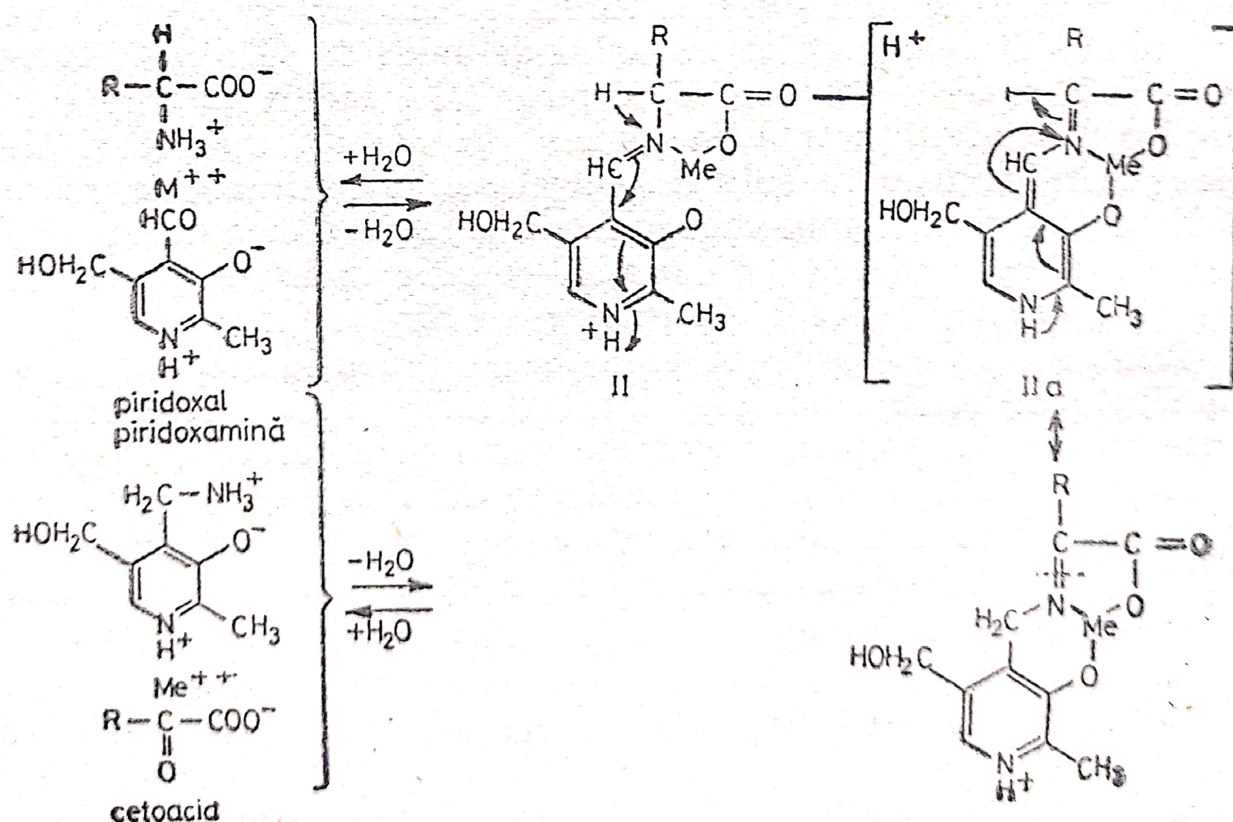
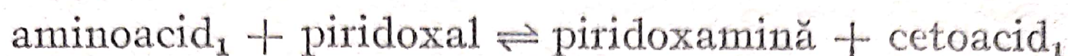


Fig. 10.XVIII. Mecanismul reacţiei de transaminare în cataliza neenzimatică a piridoxalului şi ionului metalic (după B. Jezowska — Trzebiatowska).

cancerigene, pentru studiul proceselor de depozitare, control şi transport a fierului etc.

Reacţiile de transaminare, deosebit de importante în metabolismul proteic, sînt catalizate în organism de enzime şi decurg astfel :



$$\text{aminoacid}_1 + \text{piridoxal} \rightleftharpoons \text{piridoxamină} + \text{cetoacid}_1$$



$$\text{cetoacid}_2 + \text{piridoxamină} \rightleftharpoons \text{piridoxal} + \text{aminoacid}_2$$



$$\text{aminoacid}_1 + \text{cetoacid}_2 \rightleftharpoons \text{aminoacid}_2 + \text{cetoacid}_1$$

Transaminarea enzimatică este catalizată de o enzimă care conţine piridoxal (vitamina B_6) [59], care, aşa cum rezultă din reacţiile de mai sus, nu se consumă, ci joacă rol de activator al moleculei de aminoacid, prin formarea cu acesta de aldimine, respectiv baze Schiff, în prezenţa unei enzime.

Reacţiile de transaminare neenzimatică decurg tot pe baza formării piridoxaminei, din aminoacizi şi piridoxal, sub acţiunea ionilor de Fe(III) şi Cu(II), care joacă rolul enzimei [59—61]. Această acţiune a ionilor metalici se explică prin labilizarea atomului de hidrogen din poziţia α a restului de aminoacid, urmată de formarea piridoxaminei [59] (Fig. 10.XVIII).

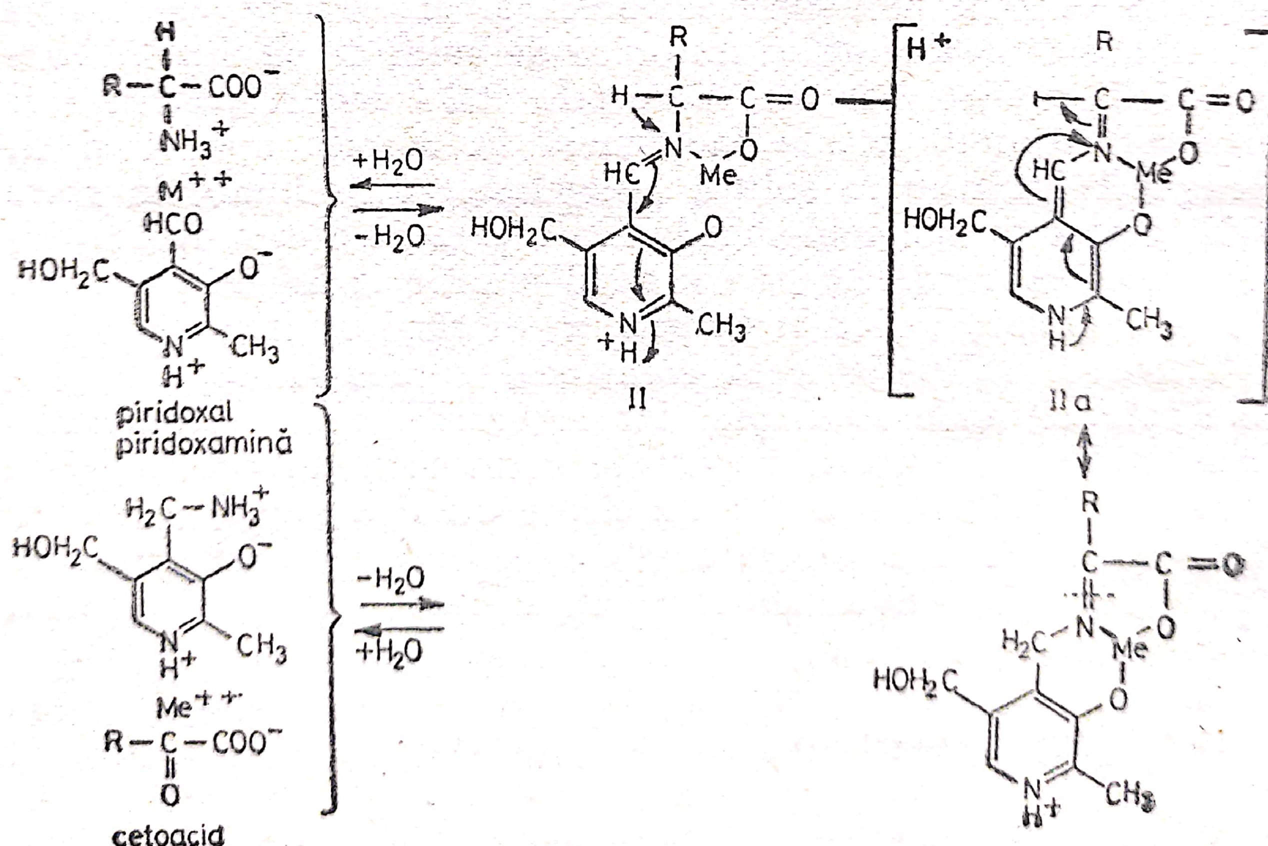


Fig. 10.XVIII. Mecanismul reacţiei de transaminare în cataliza neenzimatică a piridoxalului şi ionului metalic (după B. Jezowska — Trzebiatowska).

Labilizarea atomului de hidrogen din poziția alfa se datorește modificării structurii electronice produse în molecula complexului în urma formării chelatului. Baza Schiff, formată prin condensarea aminoacidului cu piridoxalul, are tendința de a se decarboxila (decarboxilarea este catalizată de piridoxal), pentru ca apoi produsul de decarboxilare să poată hidroliza cu formarea aminei corespunzătoare și a piridoxalului. În aceste condiții, contribuția ionului metalic este determinată de structura complexului. După unii autori [62], ionul metalic are rolul de inhibitor al reacției de decarboxilare, deoarece, prin chelatare, caracterul electrofil al grupei carbonil se intensifică, ceea ce determină labilizarea atomului de hidrogen din poziția alfa. Scăzînd tendința de decarboxilare, evident că transaminarea decurge mai ușor.

Au fost sintetizați complecși ai Cu(II) cu baze Schiff, obținute prin condensarea salicilaldehidei cu unele amine primare, complecși activi în procesele de transaminare. S-a intreprins un studiu amplu al acestor complecși pentru stabilirea caracterului legăturii metal-ligand, ca și influența substituenților (respectiv a structurii aminei)asupra acesteia. Spre exemplu, substituenții voluminoși, ca izopropil și terțbutil, determină o simetrie tetraedrică a complecșilor, spre deosebire de majoritatea complecșilor Cu(II) cu baze Schiff, care sînt patratici. Din cercetările făcute rezultă că natura legăturii din complecși și activitatea lor biologică (și chimică), sînt afectate profund, pe de o parte de chelatarea însăși, iar pe de altă parte de modificările densității electronice cauzate de substituenți.

O altă categorie de complecși foarte importanți este aceea a complecșilor fierului cu monoxidul de azot (nitrozil). Astfel, de complecși se formează în drojdiile cultivate în mediu anaerob, în soluții de nitrit sau de nitrat, precum și în ficatul de șobolan cu cancer indus [63—66]. În general, complecșii aceștia sînt de forma FeNO-proteină. Unele săruri ale fierului cu NO și S au activitate inhibitorie asupra respirației, fermentației, inhibînd și unele enzime ca dehidrogenaza din lapte, alcool-dehidrogenaza, ribonucleaza etc, [64].

Unii complecși sintetici, cum sînt $Fe(NO_2)$-cisteina, FeNO-tiouree etc, pot fi utilizați ca modele pentru complecșii FeNO-proteină (cu sulf), cum sînt actomiozina, albumina, aldolaza, dehidrogenaza etc., implicate în reacțiile redox din mitocondrii și în alte procese biologice. Prin determinări RES, executate pe extract de ficat de șobolani hrăniți cu substanțe cancerigene, s-a stabilit că acestea conțin complecși $Fe(NO_2)$-proteină-(SH) (este vorba de proteine cu grupe SH libere). Avînd în vedere

că substanțele care reacționează cu grupele SH libere din proteine au acțiune citostatică, se pare că și complecșii FeNO-proteină-$(SH)_n$ sau $Fe(NO_2)$-proteină-$(SH)_n$, care există în ficatul de șobolan hrănit cu nitrați, contribuie la inactivarea substanțelor cancerigene [64].

De remarcat că există și complecși FeNO-proteină, formați cu proteine ce nu conțin grupe SH libere, complecși cu polipeptide sau cu baze ale acizilor nucleici, sau cu aminoacizi [63], la care coordinarea se pare a se face prin atomul de azot. Au fost preparați astfel de complecși cu 1,3-imidazol, cu 1,3-benzimidazol și cu 1,3-N-alchilimidazol [68, 69], folosiți de asemenea ca modele pentru proteinele ce conțin grupe SH libere.

Pe de altă parte, au fost studiate unele modele pentru compușii naturali care reglează procesele de depozitare a fierului în organism, ca și procesele de control și de transport a fierului în organism. Reglarea depozitării fierului în organism o face feritina, iar transportul lui în organism, transferina. Feritina și transferina sînt complecși cu structură polimeră, conținînd fier și o punte de oxigen. Complecșii polinucleari cu punți de sulf sînt implicați în transportul electronilor, respectiv în transferul acestora [70—72]. Dintre complecșii, studiați ca modele pentru astfel de procese, au fost dimerul Na_4(EDTA—Fe—O——Fe—EDTA) · $2H_2O$ și $[Fe(salen)_2]O$ [72—74]. Acești complecși au fost studiați sub aspectul interacțiunilor de schimb, dintre ionii de fier, și al influenței lor asupra structurii electronice a polimerilor cercetați.

Ținînd seama de faptul că vitamina B_{12} (cianocobalamina) are rol de catalizator în sinteza acizilor nucleici, fiind implicată și în funcționarea sistemelor nervoase, ca și în formarea unor complecși cu unele proteine, au fost sintetizați unii complecși ai vitaminei B_{12} cu mucoproteina și glutationul, în vederea studierii rolului ionului metalic în adsorbția proteinelor pe vitamina B_{12}. Acești complecși au fost saturați cu ioni de cupru, fier, cobalt și molibden. Spectrele RES și IR ale acestor complecși arată că vitamina B_{12} coordinează cu ionii metalici menționați [75—78].

Au fost, de asemenea, sintetizați unii complecși ai Cu(II) cu adenina și ai Fe(III) cu guanina și glutationul, constituenți ai acizilor nucleici, care se prezintă în stare de dimeri sau trimeri. Spre exemplu, Cu(II) dă cu adenina un complex cu structură dimeră (Fig. 10.XIX). Deprotonarea adeninei și a guaninei are loc cu modificarea sistemului de legături π, modificare ce este însoțită de delocalizarea densității electronice prin puntea N—C—N, care leagă ionii, concomitent cu modificarea densității

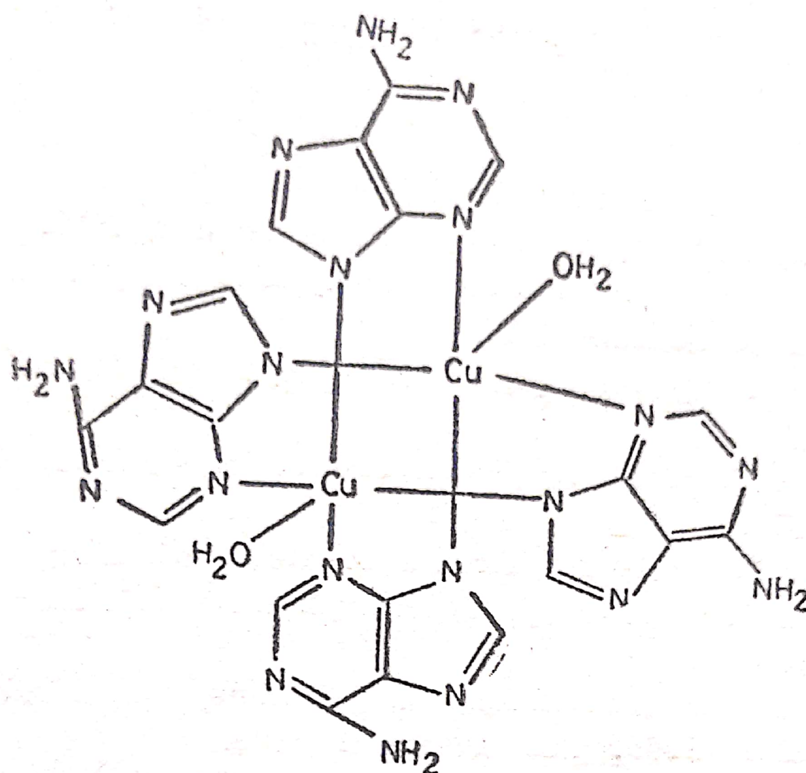
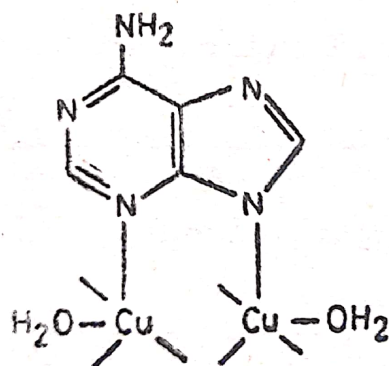


Fig. 10.XIX. Structura binucleară a complexului Cu_2(adenină)$_4$ · $4H_2O$ (după B. Jezowska — Trzebiatowska).



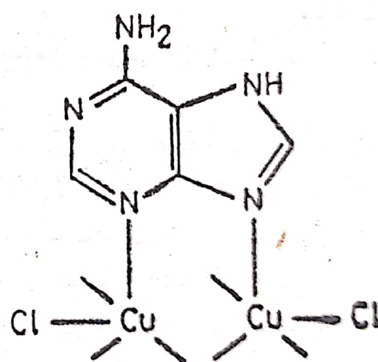


Fig. 10.XX. Aranjamentele legăturilor în asociațiile binucleare ale complexului Cu_2(adenină)$_4$ · $4H_2O$ (după B. Jezowska — Trzebiatowska).

electronice pe ionii metalici. Dimerii menționați se caracterizează printr-un antiferomagnetism pronunțat, deoarece orbitalii π ai ciclurilor purinice sînt ușor accesibili pentru electronii Cu(II) și Fe(II), Fig. 10.XX. În general, orice modificare a sistemului de legătură, produce o modificare a delocalizării electronilor.

BIBLIOGRAFIE

1. Perrin, D. D., Nature, 206, 170, 1965.
2. Perrin, D. D., and Sayce, I. G., Talanta, 14, 833, 1967.
3. Hughes, M. N., *The inorganic chemistry of biological processes*, John Wiley and Somes Ltd, London, 1975.
4. Schwyzer, R., Aung Tun-Kyi, Caviezel, M., Moser, P., Helv. Chim. Acta 15, 53, 1970.
5. * * * *Produse farmaceutice folosite în practica medicală*, Ed. Medicală, Bucureşti, 1976.
6. Omar Farooq, Nasser Ahmed, Acta. Chim. Acad. Sci. Hung., 85, 395, 1975.
7. Birnbaum, E. R., Gomez, J. E., Darnall, D. W., J. Amer., Chem. Soc., 92, 461, 1970.
8. Manta, I., Bedeleanu, D., Bîrzu, O., Jebeleanu, Gh., *Biochimie Medicală*, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1968.
9. Fremy, E., Ann. Chim. Phys., 3, 25, 257, 1852.
10. Vortman, G., Monatsch., 6, 404, 1885.
11. Crumbliss, A. L., Basolo, F., J. Amer. Chem. Soc., 92, 55, 1970.
12. Pfeiffer, P., Breith, E., Luble, E., Tsumaki, T., Ann. Chem. Liebigs., 84, 503, 1933.
13. Calvin, M., Bailes, R., Wilmarth, W. K., J. Amer. Chem. Soc., 68, 2254, 1946.
14. Martell, A. E., Calvin, M., *Chemistry of the metal chelate compounds*, Pretince Hall, New York, 1962.
16. Cannor, J. A., Elswarth, E. A., *Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry*, Academic Press, New York, 1964.
15. Vogt, L. H., Faigenbaumm, H. M., Wiberley, S. E., Chem. Rev., 269, 1963.
17. Basolo, F., Pearson, R. G., *Mechanisms of Inorganic Reactions*, John Wiley and Sons., New York, 1967.
18. Floriani, C., Calderazzo, F., J. Chem. Soc., A, 946, 1969.
19. Foong, S. W., Miller, J. D., Oliver, F. D., J. Chem. Soc. A., 2847, 1969.
20. Simplicio, J., Wilkins, R. G., J. Amer. Chem. Soc., 91, 1325, 1969.
21. Calligaris, M.. Nardin, G., Randaccio, L., Ripamonte, A., J. Chem. Soc. 1970, 1069.
22. Schranzer, G. W., Lee, L. P., J. Amer. Chem. Soc., 92, 1551, 1970.
23. Franch, J. P., Bacard, C., Serec de Rock, J., Sanis, L., Rev. de L'Institut Français de Petrole, XXIV (No. 6), 710, 1969.
24. Griffith, J. S., Proc. Roy. Soc. A., 235, 23, 1956.
25. Levison, J. J., Robinson, S. D., Chem. Comm. 198, 1967.
26. Vollman, J. P., Accounts Chem. Res., 1, 136, 1968.
27. Cook, C. D., Janhal, G. S., Inorg. Nucl. Chem. Letters, 3, 31, 1967.
28. Atsuka, S., Nahamura, A., Tatsuno, Y., Chem. Comm., 836, 1968.

29. Van Dort, H. M., Geursen, H. J., Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 86, 520, 1967.
30. Valentine, J., Valentine, D., Collnan, J. P., Inorg. Chem., 10, 219, 1971.
31. Levison, J. J., Robinson, S. D., J. Chem. Soc., 762, 1971.
32. Bayer, E., Schrezmann, P., Structure and Bonding, 2, 1967.
33. Sykes, A. G., Weil, J. A., Progr. Inorg. Chem., 13, 1, 1970.
34. Wilkins, R. G., Advan. Chem. Ser., 100, 111, 1971.
35. Choy, V. J., O'Connor, C. J., Coord. Chem. Rev. 145, 9, 1972.
36. Ingraham, L. L., Comprehensive Biochemistry, 424, 14, 1966.
37. Mc Ginnety, J. A., *Inorganic Chemistry Ser. One Transition Metals*, Part 1, 1970.
38. Jezowska-Trzebiatowska, B., Vogt, A., Proc. XIV, ICCC, 300, 1970.
39. Jezowska-Trzebiatowska, B., Vogt, A., Kozlowski, H., Jezierski, A., Bul. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Chim., 20, 187, 1972.
40. Berger, S., Gibson, K., Acta Chem. Scand., 26, 2972, 1972.
41. Griffith, J. S., Proc. Roy. Soc. A., 235, 23, 1966.
42. Pauling, L., Nature, 203, 182, 1964.
43. Allen, A. D., Senoff, C. V., Chem. Comm., 621, 1965.
44. Allen, A. D., Bohomley, F., Harris, R. O., Reinsabe, V. P., Senoff, C. V J. Amer. Chem. Soc., 89, 5595, 1967.
45. Chatt, J., Ferguson, J. E., Chem. Comm., 126, 1968.
46. Harrison, D. F., Taube, H., J. Amer. Chem. Soc., 89, 5706, 1967.
47. Allen, A. D., Stevens, J. R., Chem. Comm., 1147, 1967.
48. Sacco, A., Aresta, M., Chem. Comm., 1223, 1968.
49. Yamamato, A., Kitazume, S., Pu, L. S., Ikeda, S., Chem. Comm., 79, 1967.
50. Jolly, P. W., Ionas, K., Angew. Chem. Interat., Ed. 7, 731, 1968.
51. Collman, J. P., Jung Wang Kang, J. Amer. Chem. Soc., 88, 3459, 1966.
52. Hidai, M., Tominari, K., Uchida, Y,, J. Amer. Chem. Soc., 94, 110, 1972.
53. Huber, K., Kündig, E. P., Moskovits, M., Ozin, G. A., J. Amer. Chem, Soc., 95, 332, 1973.
54. Chatt, J., Elson, C. M., Richards, R. L., Chem. Comm., 189, 1974.
55. Van Tamelen, E. E., Gladysz, J. A., Miller, J. S., J. Amer. Chem. Soc., 95, 1347, 1973.
56. Jezowska-Trzebiatowska, B., Sobota, P., Kozlowski, H., Jezierski, A. Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Chim., 2, 194, 1972.
57. Jezowska-Trzebiatowska, Sobota, P., Organometal Chem. 46, 339, 1972.
58. Jezowska-Trzebiatowska, Sobota, P., Pluzinski, T., Procedings of III Conference on Coordination Chemistry, Smolenice-Bratislava, 135, 1971.
59. Guirard, B. M., Snell, E. E., *Comprehensive Biochemistry*, vol. 15, eds. M. Florkin and E. H. Stoltz, Elsevier, New York, 1964.
60. Snell, E. E., Vitamins and Hormones, 16, 17, 1958.
61. Metzler, D. E., Ikawa, M., Snell, E. E., Biochemistry, 76, 648, 1954.
62. Kalyankar, G. D., Snell, E. E., Biochemistry, 1, 594, 1962.

63. Woolum, J. C., Tiezzi, E., Commoner, B., Biochim. Biophys. Acta., 160, 311, 1968.
64. Woolum, J. C., Commoner, B., Biochem. Biophys. Acta, 201, 13, 1970.
65. Vanin, A. F., Kubrina, L. N., Lisovskaya, I. L., Malenkova, J. W., Chetverikov, A. G., Biofizika, 16, 650, 1971.
66. Vanin, A. F., Biochimia, 32, 227, 1967.
67. Vanin, A. F., Burbaiev, D. Sm., Sarn, T., Mardanian, S., Biofizika, 17, 179, 1972.
68. Jezowska-Trzebiatowska, B., Jezierski, A., Kozlowski, N., Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Chim., in press.
69. Jezowska-Trzebiatowska, B., Jezierski, A., J. Mol. Struct., in press.
70. Elliott, N., J. Chem. Phys., 35, 1273, 1961.
71. Schugar, H., Hubard, A., Gray, H., J. Amer. Chem. Soc., 91, 71, 1969
72. Schugar, H., Walling, C., Jones, R., Gray, H., J. Amer. Chem. Soc., 89 3712, 1967.
73. Lewis, J., Mabbs, F., Nature, 207, 4989, 855, 1965.
74. Lewis, J., Mabbs, F., J. Chem. Soc. (A), 1014. 1967,
75. Duerest, R. W., Baum, S. J., Kozlowska, G. T., Nature, 272, 665, 1969.
76. Asakawa, I., Inone, M., Hara, K., Kubo, M., Bull. Chem. Soc. Japan 45, 1054, 1972.
77. Neester, P., Goodgame, D. M. L., Price, K. A., Skapski, A. C., Chem. Comm., 1573, 1970.
78. Carrabine, J. A., Sundaralingam, H., Biochemistry, 10, 292, 1971.



CAPITOLUL 11

AGENȚI DE MASCARE ÎN TERAPIA INTOXICAȚIILOR CU METALE GRELE

11.1. NOȚIUNI GENERALE

Intoxicațiile cu metale grele, respectiv cu ioni ai acestor metale sînt de obicei de natură profesională, accidentale, mai rar consecutive încercărilor de suicid sau crimelor. Adesea astfel de intoxicații se datoresc poluării excesive a mediului ambiant cu ioni de Pb(II), Cd(II), Hg(II), As(III), As(V), Be(II) etc., ca urmare a industrializării și tehnicizării diverselor sectoare de activitate. Majoritatea ionilor metalici cu acțiune toxică sînt tioloprivi, respectiv manifestă o mare afinitate față de grupele SH din proteine și enzime, ceea ce determină deplasarea ionilor metalici biologic activi, deci dereglarea multora dintre procesele metabolice normale. De aceea, pentru tratamentul intoxicațiilor cu ioni ai metalelor grele, se utilizează agenți de mascare complexanți, de regulă substanțe organice cu acțiune chelatantă. Eficiența tratamentului cu astfel de agenți chelatanți depinde de o serie de factori fizico-chimici, ca și de unele condiții fiziologice pe care trebuie să le îndeplinească agenții de mascare, antidoturi.

Dintre factorii fizico-chimici se pot menționa următorii:

1. Structura și proprietățile fizico-chimice ale antidoturilor.
2. Stabilitatea complecșilor pe care aceștia îi formează cu ionii metalici (stabilitatea complecșilor trebuie să fie mare).
3. Distribuția ionilor metalici în lichidele și țesuturile din organism și modul de legare a acestora cu liganzii biologici existenți în organism.
4. Ușurința cu care liganzii-antidoturi și complecșii lor pot străbate membranele celulare.
5. Preferința liganzilor-antidoturi față de ionii metalici toxici, care trebuie să fie mai mare decît afinitatea lor față de ionii metalici esențiali.

Dintre condițiile fiziologice pe care trebuie să le îndeplinească agenții de mascare-antidoturi se pot aminti următoarele:

1. Să poată ajunge (să difuzeze) relativ ușor în întreg sistemul vascular, pentru a acționa în întreg organismul intoxicat.

2. Să fie puțin toxici, dacă se poate deloc, deoarece adesea este necesară o supradozare (administrarea în cantități mai mari decît cele stoechiometric necesare), caz în care liganzii toxici produc complicații.

3. Să împiedice trecerea ionilor metalici toxici din sînge în celule.

4. Să poată elimina ionii toxici din celule, dacă aceștia au pătruns deja în sînge.

5. Să formeze cu ionii metalici toxici complecși solubili, ușor excretabili, deoarece oricît de stabil ar fi un complex, în timp, el eliberează treptat, fie și în cantități mici, ionul metalic toxic.

Dacă pentru mulți ioni metalici toxici s-au găsit unele antidoturi destul de potrivite și eficiente, în cazul intoxicațiilor cu radioizotopi este dificilă găsirea unor agenți de mascare potriviți, mai ales dacă aceste toxice se depozitează în unele părți ale organismului mai greu accesibile, cum sînt oasele.

Deși în unele cazuri s-au găsit antidoturi potrivite, din punct de vedere al eficienței eliminării toxicului radioactiv, aceste antidoturi au, de regulă, o toxicitate relativ mare. Spre exemplu, ^{210}Pb-radioactiv se poate elimina cu diacetat de 2-mercaptociclohexil sau cu dimetilderivatul acestuia [1], chiar mai eficient decît cu EDTA, dar ambii compuși au o toxicitate destul de mare.

De asemenea, se poate micșora retenția stronțiului radioactiv în oase printr-un tratament cu acid ciclopentadiaminotetraacetic [2], dar eficiența este prea mică, ca dealtfel și în cazul utilizării bis-(dicarboxiaminoetil)-eterului, caz în care retenția stronțiului radioactiv este încă (la șoareci) după 24 ore, de 50% [3].

În sfîrșit, avînd în vedere că majoritatea agenților de chelatare au o selectivitate redusă, consecutiv tratamentului prin chelatare, este în general necesară administrarea de preparate cu ioni metalici esențiali, pentru aducerea acestora la nivele de concentrație fiziologic normale. Aceasta pentru că, în timpul tratamentului intoxicațiilor cu ioni metalici, antidoturile elimină și ioni ai metalelor esențiale (de exemplu în terapia cu $CaEDTANa_2$ scade considerabil rezerva de zinc esențial din organism).

În tabelul 11.1 sînt trecuți principalii ioni metalici toxici (cu toxicitate ridicată), unele dintre acțiunile lor mai caracteristice și antidoturile utilizate pentru tratarea lor.

TABELUL 11.1

Principalii ioni toxici și antidoturile corespunzătoare.

Ionul	Acțiunea toxică	Antidoturi utilizate
Zn(II)	Puternic caustică locală datorită precipitării sau floculării proteinelor. Trece în țesuturi ca albuminați solubili. Acțiune paralizantă la nivelul SNC, leziuni ale aparatului circulator și mușchilor, paralizia membrelor. Exitus prin colaps sau edemul glotei.	BAL, D-Penicilamină, CaEDTA$-Na_2$ (calciu Haussmann)
Cd(II)	Toxicitate hepato-renală și hematică. Inhibă enzimele prin blocarea grupelor tiolitice, prin complexare. Produce anemie, astenie, ulcerații nazale, emfizem, nefrită cronică discretă, osteoză cadmică, fisuri osoase. În intoxicații acute exitus prin insuficiență respiratorie și circulatorie.	CaEDTA$\cdot Na_2$ Nu se utilizează BAL! Este total ineficace.
Hg(II)	Acțiune iritant-corosivă necrozantă asupra căilor respiratorii, tubului digestiv, sistemul nervos (cefalee, amețeli, anxietate), hipertermie, tendință spre colaps. Toxic tiolopriv, blocînd grupele SH prin complexare; complecșii solubili în exces de proteine, pătrund în circulația generală, determinînd dezintegrare tisulară; blochează enzimele cu grupe disulfură, produce leziuni renale (necroză, nefrită).	BAL, numai în intoxicații acute (în cele cronice nu!). CaEDTA$-Na_2$. Rongalit (formaldehidsulfoxilat de sodiu).
Cu(II)	Iritant local, toxic la nivelul mușchilor striați și mușchiului cardiac (produce paralizia și oprirea respirației sau stop cardiac în diastolă). Produce anemie hemolitică; toxic la nivelul ficatului și rinichiului. Emetic. Formează complecși albuminați sau lipidici (ultimii în ficat, rinichi, pancreas, sistemul nervos, oase). Mai rar corosiv hepatic.	CaEDTA$-Na_2$

TABELUL 11.1

Principalii ioni toxici și antidoturile corespunzătoare.

Ionul	Acțiunea toxică	Antidoturi utilizate
Zn(II)	Puternic caustică locală datorită precipitării sau floculării proteinelor. Trece în țesuturi ca albuminați solubili. Acțiune paralizantă la nivelul SNC, leziuni ale aparatului circulator și mușchilor, paralizia membrelor. Exitus prin colaps sau edemul glotei.	BAL, D-Penicilamină, CaEDTA$-Na_2$ (calciu Haussmann)
Cd(II)	Toxicitate hepato-renală și hematică. Inhibă enzimele prin blocarea grupelor tiolitice, prin complexare. Produce anemie, astenie, ulcerații nazale, emfizem, nefrită cronică discretă, osteoză cadmică, fisuri osoase. În intoxicații acute exitus prin insuficiență respiratorie și circulatorie.	CaEDTA$\cdot Na_2$ Nu se utilizează BAL! Este total ineficace.
Hg(II)	Acțiune iritant-corosivă necrozantă asupra căilor respiratorii, tubului digestiv, sistemul nervos (cefalee, amețeli, anxietate), hipertermie, tendință spre colaps. Toxic tiolopriv, blocînd grupele SH prin complexare; complecșii solubili în exces de proteine, pătrund în circulația generală, determinînd dezintegrare tisulară; blochează enzimele cu grupe disulfură, produce leziuni renale (necroză, nefrită).	BAL, numai în intoxicații acute (în cele cronice nu!). CaEDTA$-Na_2$. Rongalit (formaldehidsulfoxilat de sodiu).
Cu(II)	Iritant local, toxic la nivelul mușchilor striați și mușchiului cardiac (produce paralizia și oprirea respirației sau stop cardiac în diastolă). Produce anemie hemolitică; toxic la nivelul ficatului și rinichiului. Emetic. Formează complecși albuminați sau lipidici (ultimii în ficat, rinichi, pancreas, sistemul nervos, oase). Mai rar corosiv hepatic.	CaEDTA$-Na_2$

Ionul	Acţiune toxică	Antidoturi utilizate
Au(III)	Toxic tiolopriv, inhibă enzimele cu grupe SH implicate în procesele redox celulare. Toxic hematic (prin mecanism central), hepato şi nefrotoxic; deprimă hematopoeza şi produce aurostomatită. Efecte secundare la administrare de Sanocrysin, Solganal (Tauredon). Intoxicaţii acute accidentale prin supradozaj.	BAL
Tl(I)	Toxic al SNC (depresie generală, delir, convulsii epileptiforme, manifestări demenţiale, encefalopatie talică, paralizia membrelor inferioare). Acţiune tiolopriva în metabolismul cisteinei. Toxic digestiv, renal, ocular (iris, cristalin, uneori cecitate). Toxic cumulativ. Tulburări ale funcţiilor genitale, oprirea ciclului menstrual. Efect alopeciant. Exitus prin colaps sau stop respirator.	BAL, cisteina, metionina, tioacetamida, CaEDTA—Na_2.
Pb(II)	Toxic tiolopriv, deplasînd unele metale din metaloenzime (de ex. cele care participă la sinteza hemoglobinei). Toxic cardio-circulator (vasoconstricţie-hipertensiune, arterioscleroză). La nivel celular inhibă cofactorii NADH şi NADPH, influenţînd procesele redox. Neurotoxic al SNC şi la nivelul nervilor periferici; nefrotoxic.	CaEDTA—Na_2 Ca-gluconic CaDTPA—Na_3 (BAL)
As(III, V)	Toxic tiolopriv, inhibînd enzimele cu grupe tiolice (lacticodehidrogenaza, glicerofosfatdehidrogenaza, piruvat-oxidaza, citocromoxidaza, succindehidrogenaza, sistemele cisteină-cistină, glutation redus-glutation oxidat, respiraţia celulară) blocînd metabolismul glucidic şi lipidic la stadiul de acid piruvic.	BAL Tiomalat de sodiu D-Penicilamina, Penicilina Metionina (care are şi rol de hepatoprotector).

Ionul	Acţiune toxică	Antidoturi utilizate
Au(III)	Toxic tiolopriv, inhibă enzimele cu grupe SH implicate în procesele redox celulare. Toxic hematic (prin mecanism central), hepato şi nefrotoxic; deprimă hematopoeza şi produce aurostomatită. Efecte secundare la administrare de Sanocrysin, Solganal (Tauredon). Intoxicaţii acute accidentale prin supradozaj.	BAL
Tl(I)	Toxic al SNC (depresie generală, delir, convulsii epileptiforme, manifestări demenţiale, encefalopatie talică, paralizia membrelor inferioare). Acţiune tioloprivă în metabolismul cisteinei. Toxic digestiv, renal, ocular (iris, cristalin, uneori cecitate). Toxic cumulativ. Tulburări ale funcţiilor genitale, oprirea ciclului menstrual. Efect alopeciant. Exitus prin colaps sau stop respirator.	BAL, cisteina, metionina, tioacetamida, CaEDTA$-Na_2$.
Pb(II)	Toxic tiolopriv, deplasînd unele metale din metaloenzime (de ex. cele care participă la sinteza hemoglobinei). Toxic cardio-circulator (vasoconstricţie-hipertensiune, arterioscleroză). La nivel celular inhibă cofactorii NADH şi NADPH, influenţînd procesele redox. Neurotoxic al SNC şi la nivelul nervilor periferici; nefrotoxic.	CaEDTA$-Na_2$ Ca-gluconic CaDTPA$-Na_3$ (BAL)
As(III, V)	Toxic tiolopriv, inhibînd enzimele cu grupe tiolice (lacticodehidrogenaza, glicerofosfatdehidrogenaza, piruvat-oxidaza, citocromoxidaza, succindehidrogenaza, sistemele cisteină-cistină, glutation redus-glutation oxidat, respiraţia celulară) blocînd metabolismul glucidic şi lipidic la stadiul de acid piruvic.	BAL Tiomalat de sodiu D-Penicilamina, Penicilina Metionina (care are şi rol de hepatoprotector).

Ionul	Acțiunea toxică	Antidoturi utilizate
Sb(III, V)	Toxic tiolopriv. Acțiune similară cu aceea a arsenului. Stimularea nervilor simpatici, diaree. Acțiune electivă asupra funcțiilor antitoxice a ficatului. Vasodilatație intensă, producînd exagerarea tuturor excrețiilor.	Apă albuminată BAL
Bi(III)	Trece bariera digestivă, fiind vehiculat ca albuminați. Blochează grupele SH, scade hematopoeza medulară. Toxic hematic (hemoragii, epistaxis, metroragii, anemii), nervos (cefalee, vertij, astenie, inhibă respirația celulară), renal (poliurie, oligurie, nefrită gravă). Acțiune alergizantă, stomatite, osteoporoză (Bi are tropism osos); scade rezistența organismului, favorizînd bolile infecțioase. Intoxicații terapeutice similare acelora cu mercur.	BAL Tiomalat de sodiu (cu precauție).
V(II, III, V)	Toxic local iritativ (lăcrimare, rinoree, epistaxis, bronșită). Toxic digestiv și hepatic.	BAL CaEDTA$-Na_2$
Cr(III, VI)	Toxic local iritativ-corosiv, alergizant; mai ales Cr(VI) methemoglobinizant, cu simptome asfixiante, cianoză; nefro și hepatotoxic. Cancerigen (cancer pulmonar, mai rar cancer nazal și laringian). Leziuni cutanate, ulcere, gastroenterită, oligurie urmată de anurie și azotemie. Anemiant. Stomatite grave.	CaEDTA$-Na_2$
Se și Te	Toxici iritativi ai căilor respiratorii (tuse, uscăciune în gît, rar edem pulmonar). Conjunctivite, tulburări digestive, leziuni hepatice (hepatomegalie, ciroză), alopecie, sindrom astenic.	BAL Metionină Glutation

Ionul	Acţiunea toxică	Antidoturi utilizate
Mn(II, VII)	Toxic cumulativ; local iritativ-corosiv. Mn(VII)-methemoglobinizant, toxic cardiac, hepatotoxic, toxic nervos (leziuni ale substanţei cenuşii), vasoplegie şi paralizia membrelor inferioare. Vorbire grea, bazedow manganic.	BAL CaEDTA–Na_2 Tiomalat de sodiu Rongalit
Ni(II), $Ni(CO)_4$ Ni	Toxic tiolopriv, toxic nervos acţionînd asupra SNC (convulsii, halucinaţii, edem cerebral) Carcinogen; Ni-pulbere produce cancer pulmonar şi nazal. $Ni(CO)_4$ toxic sufocant (edem pulmonar). Exitus prin cord pulmonar acut.	CaEDTA–Na_2 BAL Dietilditiocarbamat
Co(II), $Co(CO)_8$, Co	Toxic local-iritativ, la nivelul organelor hematoformatoare (poliglobulie), vasodilatator (hipotensiv). Toxic nervos (convulsii, astm pulmonar). Carcinogen (cancer pulmonar, osteosarcom).	BAL CaEDTA–Na_2 Cisteină Metionină
Be(II)	Tulburări locale respiratorii, iritaţii dureroase: conjunctivite acute sau recidivante, bronhopneumopatii acute, cronice, pneumotorax spontan, dermatite acute. Complicaţii cardiace (hipo şi asistolie). Inhibă amilazele şi fosfataza alcalină.	Ac. aurintricarboxilic.
B(III)	Toxic al SN, acţionînd mai ales asupra materiei cenuşii. Hipotensor şi bradicardizant. Acţiune specifică asupra hipofizei.	BAL
Fr. Ra, actinide	Toxicitate datorată radioactivităţii; carcinogene.	DTPA; pt. compuşi cu U(III), Pu(II) acetat de zirconil+citrat de Na.

Tratamentul intoxicaţiilor se face pe faze de intoxicaţie şi în mod diferenţiat pentru fiecare din cele cinci faze.

Prima fază a intoxicaţiei este faza de penetraţie a toxicului în organism. De regulă, este practic imposibil de a se acţiona

în această fază, deoarece, în acest caz, singur subiectul (victima) poate opri intoxicația spontan, în mod voluntar (dacă este conștient) sau în mod reflex (reacție de apărare).

A doua fază este aceea a absorbției toxicului. Din acest punct de vedere interesează mai ales calea digestivă de pătrundere și absorbția consecutivă, deoarece, în cazul penetrației parenterale faza de absorbție este scurt-circuitată. În această fază, tratamentul constă în administrarea de emetice, purgative, antitoxice și spălături gastrice.

Faza a treia de intoxicație constă în transportul și difuzia toxicului, care se localizează în țesuturi moi. În intoxicațiile cronice cu metale grele, acestea se depozitează preferențial în oase (plumbul), ficat (cuprul), în creier și rinichi (cuprul, respectiv mercurul) etc. Pentru a putea acționa în această fază este necesară cunoașterea precisă a naturii toxicului. Dacă această condiție este îndeplinită, se alege un antidot potrivit, cît mai specific posibil, și se administrează intravenos. În acest fel, se realizează o „neutralizare chimică" a toxicului, prin formarea unor compuși toxic-antidot, de regulă chelați, mai stabili, mai puțin toxici și mai ușor de eliminat. În fond, această neutralizare prin chelatare, constă în deionizarea metalelor grele, prin fixarea lor în „cicluri închise", proces prin care ionii își pierd toxicitatea, fiind privați de posibilitatea de a reacționa cu liganzii biologici din organism.

În faza a patra, are loc fixarea tisulară a toxicului, cînd acesta provoacă perturbații mai mult sau mai puțin grave asupra organismului, care se exteriorizează specific prin simptomele intoxicației. În această fază nu este necesară cunoașterea exactă a naturii toxicului, ci numai stabilirea diagnosticului funcțiunilor vitale afectate. Prin urmare, în acest caz, terapia este simptomatică, adică se administrează antagoniști fiziologici, prin care se urmărește inhibarea efectelor determinate de toxic.

În faza a cincea, are loc eliminarea toxicului prin excreție, care este stimulată prin administrarea de diuretice, colinergice, purgative etc., în același timp se protejează organele lezate (ficat, rinichi etc.).

Trebuie precizat că nu orice agent chelatant se poate utiliza în terapie, ci numai cei care îndeplinesc unele condiții cerute pentru orice medicament. În primul rînd, este necesară cunoașterea exactă a compoziției chimice a agenților chelatanți și a proprietăților lor fizico-chimice, bazate pe studii temeinice prin metode chimice și instrumentale. În al doilea rînd, antidoturile chelatante trebuie să se poată obține relativ ușor la

scară industrială. Agenții chelatanți trebuie să fie ușor solubili în apă și în lipide, să fie stabili în soluție, să aibă o specificitate mare față de ionii metalici incriminați, cu care trebuie să formeze chelați mai stabili decît liganzii biologici (enzime, proteine etc), să se elimine cît mai ușor și mai rapid [5].

Numărul agenților de mascare prin chelatare este foarte mare, însă, în terapie, se folosesc foarte puțini, datorită faptului că foarte puțini dintre ei sînt specifici și, în același timp, hidro- și liposolubili, stabili în soluție, puțin toxici și se excretă ușor, producînd efecte secundare minime. Pentru a fi selectivi, agenții chelatanți trebuie să conțină mai multe grupe chelatoformatoare, ceea ce le conferă o mare capacitate de complexare. Hidro și liposolubilitatea este necesară, pentru ca aceștia să poată fi transportați la locul de acțiune din țesuturile în care se concentrează ionii metalici toxici, ca și pentru transportarea excesului (odată cu complexul toxic-antidot) la locul de excreție [6—8]. Avînd în vedere toți acești factori, este posibilă abordarea rațională a terapiei afecțiunilor determinate de excesul (sau chiar deficitul) unor ioni metalici în organism [9].

În cazul intoxicațiilor cu metale grele este foarte important în primul rînd, să se împiedice prin mascare, concentrarea, respectiv reținerea în organism a metalelor și numai în al doilea rînd excreția lor. Adică mascarea prin chelatare nu permite concentrarea ionilor metalici într-un țesut oarecare, iar chelatul format, fiind mai puțin toxic sau lipsit de toxicitate, nu dăunează organismului, chiar dacă el se excretă mai lent. În schimb, în intoxicațiile cu metale radioactive, interesează, în primul rînd, îndepărtarea rapidă și dacă este posibil, completă, a acestora, pentru a împiedica distrugerea țesuturilor prin iradiere.

Din toate cele expuse, rezultă că problema fundamentală a terapiei prin chelatare este aceea a mascării și eliminării unor metale toxice (As, Pb, Hg, Cd, Sb, Be etc) sau reducerea concentrației unor metale biologic active (Fe(II), Cu(II), Zn(II) etc), pînă la valori fiziologice dacă acestea se găsesc în organism (dintr-un motiv oarecare), la nivele de concentrație mai ridicate. În legătură cu aceasta, trebuie remarcat că terapia prin chelatare nu trebuie să determine o scădere a concentrației ionilor metalelor esențiale, sub limitele fiziologice normale. Spre exemplu în terapia intoxicațiilor cu plumb, dacă se administrează ca agent de mascare Na_2EDTA intravenos, acesta poate determina o scădere a concentrației calciului sanguin pînă la apariția tetaniei, iar administrarea lui mai îndelungată, chiar în doze mici, poate provoca decalcifierea oaselor.

În general, eficiența terapiei prin chelatare depinde de

distribuția ionilor metalici în țesuturi, precum și de ușurința lor de translocare dintr-un anumit țesut în altul (în stare liberă sau complexat). Dar în unele cazuri translocarea poate determina efecte nedorite sau chiar periculoase. Spre exemplu în cazul tratării cu BAL a intoxicației cu plumb, este posibilă translocarea și deci concentrarea plumbului în creier, producîndu-se o agravare a encefalopatiei [10, 11].

Eficiența terapiei cu agenți chelatanți este cu atît mai mare, cu cît se aplică mai devreme, în raport cu penetrația toxicului în organism, și cu cît excreția se face mai ușor. Dar eliminarea metalelor toxice trebuie să se facă în primul rînd din sînge, iar eliminarea lor din alte părți ale organismului este dependentă de viteza lor de distribuție în diferitele țesuturi.

Pe de altă parte, s-a arătat că în organism este vorba de sisteme competitive (între antidoturi și sistemele biologice chelatante), deci agenții chelatanți-antidoturi trebuie să aibă o mare specificitate pentru un ion metalic sau o mare selectivitate pentru un grup restrîns de ioni metalici. Numai liganzii care răspund acestei cerințe pot avea o afinitate mai mare decît enzimele, față de un anumit ion metalic. În același timp însă, antidotul trebuie să aibă o afinitate mai mică, decît enzimele, față de ionii metalici biologic activi proprii enzimelor, pentru a nu priva enzimele de acești ioni. În sfîrșit, complecșii chelați metal-antidoturi trebuie să fie mai puțin toxici și să nu se descompună metabolic, deoarece prin descompunere se eliberează ionul metalic toxic la nivelul unui anumit organ (ficat, dar mai ales rinichi), putînd produce leziuni.

Administrarea agenților chelatanți terapeutic activi, se poate face pe cale orală, intravenos, subcutanat, intraperitoneal, pe cale respiratorie (inhalare) etc. Alegerea uneia sau a alteia dintre tehnicile de administrare depinde de rapiditatea cu care agentul chelatant trebuie să complexeze toxicul, de locul în care acesta din urmă se găsește și de capacitatea (ușurința) lui de a străbate barierele țesuturilor. În general, administrarea orală este mai puțin eficientă.

Așa cum s-a subliniat deja, deși se cunosc numeroși agenți chelatanți pentru ionii metalelor grele, în practica terapeutică se folosesc puțini, iar dintre aceștia mai frecvent utilizați sînt numai cîțiva și anume: $CaEDTANa_2$, BAL (și unii tioli înrudiți), Penicilamina și Desferioxamina B. Utilizarea unuia dintre acești liganzi, depinde, în primul rînd, de natura ionului metalic, deoarece complexarea unui anumit ion metalic se face preferențial cu anumiți atomi donori, deci cu anumiți liganzi. Pe de altă parte, legarea ionilor metalici se face de către liganzi în mod

diferit, în funcție de natura agenților chelatanți (prin atomi de oxigen și de azot în cazul EDTA, atomi de sulf în cazul BAL, prin atomi de oxigen, sulf și azot în cazul Penicilaminei și numai prin atomi de oxigen în cazul Desferioxaminei).

11.2. APLICAȚII TERAPEUTICE ALE EDTA

De regulă nu se utilizează EDTA liber (complexonul II este greu solubil în apă) și sărurile sale alcaline solubile (sarea de sodiu este complexonul III), deoarece aceștia determină decalcifierea oaselor. De obicei se utilizează sarea dublă de sodiu și de calciu care influențează puțin concentrația calciului în organism, dar poate schimba ionul Ca(II) (K = 5, 01.10^{10}), cu ionul Pb(II) (Ks = 1.10^{18}), complexonatul de plumb fiind mai stabil:



$$Ca\text{-}EDTA\text{-}Na_2 + Pb^{2+} \rightarrow Pb\text{-}EDTA\text{-}Na_2 + Ca^{2+}$$

Acest agent de chelatare are avantajul că toți complecșii săi cu ioni ai metalelor grele sînt solubili și stabili în apă, ceea ce ușurează excreția lor. Complexonatul dublu de calciu și sodiu stă la baza metodei standard de tratament a encefalopatiilor. El se administrează intravenos din mai multe motive. În primul rînd, pentru că în intoxicațiile acute cu plumb, determină o excreție rapidă a plumbului din sînge și din depozite ușor accesibile. În al doilea rînd, pentru că la administrarea orală, se absoarbe parțial și, mai ales, pentru că poate determina reabsorbția plumbului prin chelatare; este vorba de plumb deja excretat, crescînd astfel concentrația toxicului în organism [12]. După depășirea fazei acute se continuă terapia cu injecții săptămînale, timp îndelungat, pentru a se produce o redistribuire a Pb (II) din depozite mai greu accesibile (de exemplu din creier). Prin acest tratament, condus astfel, se produce o perturbare minimă a metabolismului altor compuși din organism [12]. Rezultate bune se obțin și prin administrarea intraperitoneală a Ca-EDTA-Na_2. Totuși cele mai bune rezultate se obțin prin administrarea sa intravenoasă. Deoarece toxicitatea acestui antidot este foarte mică se pot face injecții de 3g/zi intravenos, aceasta fiind tolerată bine de organismul uman. În plus, acest antidot se excretă ca atare prin urină, metabolizarea sa fiind neînsemnată. Cantitatea de plumb ce se elimină prin urină, în urma administrării Ca-EDTA-Na_2, este proporțională cu cantitatea de plumb din organele moi [13]. În literatură , se descriu numeroase cazuri de

tratament cu Ca-EDTA-Na_2, a intoxicațiilor cu plumb [14], inclusiv mecanismul de mobilizare a plumbului [15], ca și unele aplicații în domeniul veterinar [16].

Din datele prezentate reiese că rezultatele obținute în terapia intoxicațiilor cu plumb sînt foarte bune și aceasta pe bună dreptate, cu toate că în unele cazuri, tratate cu EDTA și unitiol [17], s-a observat o excreție mărită a manganului și zincului.

Desigur că în terapia intoxicațiilor cu plumb, au mai fost încercați și alți agenți chelatanți înrudiți cu EDTA, adică acizi aminopolicarboxilici, cu scopul de a mări eficiența eliminării plumbului [18]. Unii dintre acești agenți chelatanți încercați, s-au dovedit a fi mai buni decît EDTA [19] (de exemplu DTPA), alții cu eficiență similară EDTA [20], iar alții mai puțin eficienți decît EDTA [21]. Pe de altă parte, DTPA se poate utiliza în tratamentul bolii lui Wilson, deoarece micșorează concentrația ionului Cu(II) din intestine [22].

Din discuțiile purtate în literatură, reiese că EDTA este totuși preferat atît la om [23], cît și la animale. Spre exemplu, în cazul rumegătoarelor, împiedică umflarea, prin reducerea apreciabilă a concentrației magneziului și a calciului liberi din stomac [24], în cazul curcanilor [25] micșorează deprimarea determinată de o concentrație prea mare, în dieta lor alimentară, a manganului, cuprului și zincului, iar în cazul puilor [26], previne intoxicația cu vanadiu, existent în dieta lor.

În afară de intoxicațiile cu plumb, cupru și zinc, Ca-EDTA-Na_2, se utilizează, administrat ca injecții subcutane, și în terapia intoxicațiilor cu Co(II) [27], iar sub formă de injecții intraperitoneale, în terapia intoxicațiilor cu Cd(II) [28], cu condiția ca tratamentul să înceapă în mai puțin de 24 de ore de la debutul intoxicației, perioadă în care cadmiul se găsește în plasmă și cînd eficiența tratamentului este certă. Unele experiențe făcute pe șoareci intoxicați cu cadmiu (prin injecții subcutanate) și tratați cu Ca-EDTA-Na_2 au condus la rezultate interesante. Se știe că ionul Cd(II) produce hipertensiune cadmică la aceste animale. Prin administrarea de ZnEDTA și ZnCDTA se elimină cadmiul, iar hipertensiunea scade [29]. Alte experiențe efectuate pe șobolani au demonstrat că eliminarea zincului din ficatul acestor animale se poate face cu CaDTPA [30].

Complexonatul de sodiu, Na_2EDTA, se poate utiliza în tratamentul arsurilor de cornee cu var [31], pentru eliminarea calciului, sau în tratamentul bolnavilor hiperglicemici, de asemenea pentru eliminarea calciului [32]. Sub formă de MgEDTA se poate utiliza cu scopul de a modifica proporția calciului și

potasiului ionici în aritmiile determinate de digitală [33], cînd are loc complexarea calciului printr-o reacţie de schimb, [34]:



$$MgEDTA + Ca^{2+} \rightarrow CaEDTA + Mg^{2+}$$

Pe baza acestei reacţii scade concentraţia calciului şi, prin urmare, şi hipertensiunea arterială.

De asemenea, injecţiile de Ca-EDTA-Na_2, intravenos, se pot utiliza în intoxicaţiile cu sulfat de fier (II) [35], caz în care se poate utiliza şi DTPA [36], care este un agent de chelatare pentru fier mai bun decît EDTA.

Deoarece metalele grele au acţiune vătămătoare şi asupra pielii, au fost preparate unguente de protecţie cu EDTA şi liganzi înrudiţi [37].

Un alt domeniu de aplicabilitate terapeutică a EDTA şi DTPA este acela al terapiei intoxicaţiilor cu radioelemente, rezultatele obţinute cu DTPA fiind mai eficiente decît acelea obţinute cu EDTA [38], probabil datorită stabilităţii mai mari a complecşilor radionuclizi-DTPA. În cazul unor radionuclizi, terapia aceasta nu se poate aplica. Aşa de exemplu, Sr-radioactiv nu se poate elimina din oase prin această metodă, decît parţial, datorită diferenţei mici de stabilitate dintre CaEDTA şi Sr-EDTA. În general, ar fi necesară o stabilitate de cel puţin 50 de ori mai mare a SrEDTA, pentru ca acesta să poată fi eliminat. În sfîrşit, au fost preparate unele unguente cu EDTA, pentru decontaminarea pielii contaminate cu ioni metalici radioactivi [37].

Este de asemenea de remarcat că în cazul supradozării glicozidelor digitalice, cînd este necesară fixarea ionilor de calciu, se poate utiliza Na_2EDTA [34].

11.3. APLICAŢIILE TERAPEUTICE ALE BAL ŞI A ALTOR TIOLI

Deşi multe substanţe ce conţin funcţii tiolice manifestă o mare capacitate de complexare, utilizarea tiolilor este totuşi limitată, datorită unor efecte secundare pe care le produc, cum sînt: iritaţii asupra aparatului digestiv (la administrarea orală), reacţii alergice, efecte asupra hematopoezei, sau chiar acţiune cancerigenă, efecte care atestă toxicitatea lor ridicată. Totuşi unii com-

potasiului ionici în aritmiile determinate de digitală [33], cînd are loc complexarea calciului printr-o reacţie de schimb, [34]:



$$MgEDTA + Ca^{2+} \rightarrow CaEDTA + Mg^{2+}$$

Pe baza acestei reacţii scade concentraţia calciului şi, prin urmare, şi hipertensiunea arterială.

De asemenea, injecţiile de Ca-EDTA-Na_2, intravenos, se pot utiliza în intoxicaţiile cu sulfat de fier (II) [35], caz în care se poate utiliza şi DTPA [36], care este un agent de chelatare pentru fier mai bun decît EDTA.

Deoarece metalele grele au acţiune vătămătoare şi asupra pielii, au fost preparate unguente de protecţie cu EDTA şi liganzi înrudiţi [37].

Un alt domeniu de aplicabilitate terapeutică a EDTA şi DTPA este acela al terapiei intoxicaţiilor cu radioelemente, rezultatele obţinute cu DTPA fiind mai eficiente decît acelea obţinute cu EDTA [38], probabil datorită stabilităţii mai mari a complecşilor radionuclizi-DTPA. În cazul unor radionuclizi, terapia aceasta nu se poate aplica. Aşa de exemplu, Sr-radioactiv nu se poate elimina din oase prin această metodă, decît parţial, datorită diferenţei mici de stabilitate dintre CaEDTA şi Sr-EDTA. În general, ar fi necesară o stabilitate de cel puţin 50 de ori mai mare a SrEDTA, pentru ca acesta să poată fi eliminat. În sfîrşit, au fost preparate unele unguente cu EDTA, pentru decontaminarea pielii contaminate cu ioni metalici radioactivi [37].

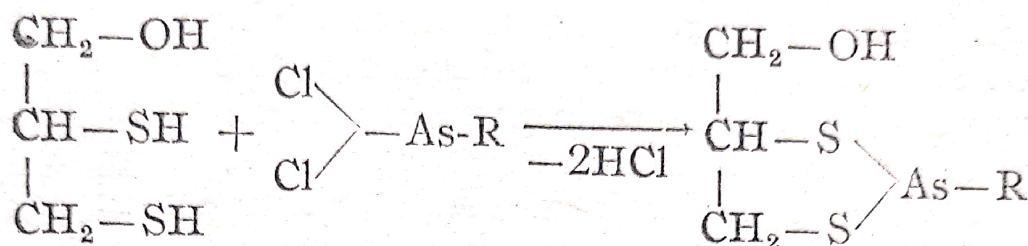
Este de asemenea de remarcat că în cazul supradozării glicozidelor digitalice, cînd este necesară fixarea ionilor de calciu, se poate utiliza Na_2EDTA [34].

11.3. APLICAŢIILE TERAPEUTICE ALE BAL ŞI A ALTOR TIOLI

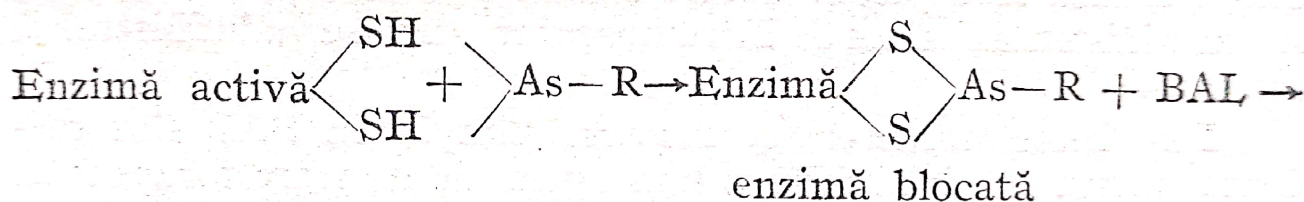
Deşi multe substanţe ce conţin funcţii tiolice manifestă o mare capacitate de complexare, utilizarea tiolilor este totuşi limitată, datorită unor efecte secundare pe care le produc, cum sînt: iritaţii asupra aparatului digestiv (la administrarea orală), reacţii alergice, efecte asupra hematopoezei, sau chiar acţiune cancerigenă, efecte care atestă toxicitatea lor ridicată. Totuşi unii com-

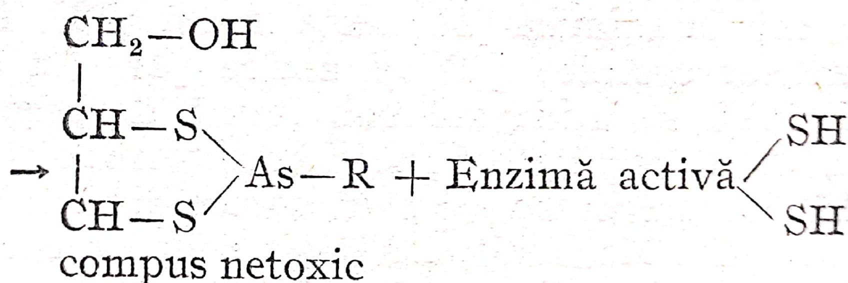
puşi tiolici au o toxicitate mai redusă, eficienţă de mascare mare, de aceea se utilizează în terapia unor intoxicaţii cu metale grele.

Se ştie că BAL (British Anti Lewisite), respectiv 2,3-dimercaptopropanolul, a fost utilizat în primul război mondial ca antidot împotriva intoxicaţiilor arsenice produse de lewizită [39]. Reacţia pe care se bazează acţiunea sa este următoarea:



În organism, arsenul are, printre altele, o acţiune tioloprivă, blocînd grupele tiolice ale unor enzime, ceea ce determină perturbaţii grave ale unor procese biochimice importante. Acest proces de blocare, ca şi acţiunea de mascare a arsenului cu BAL se pot reprezenta astfel:

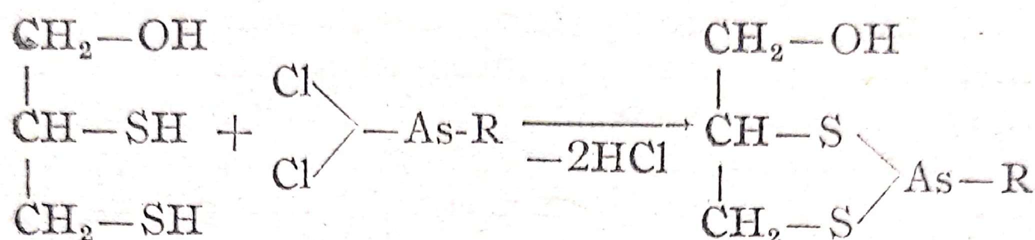




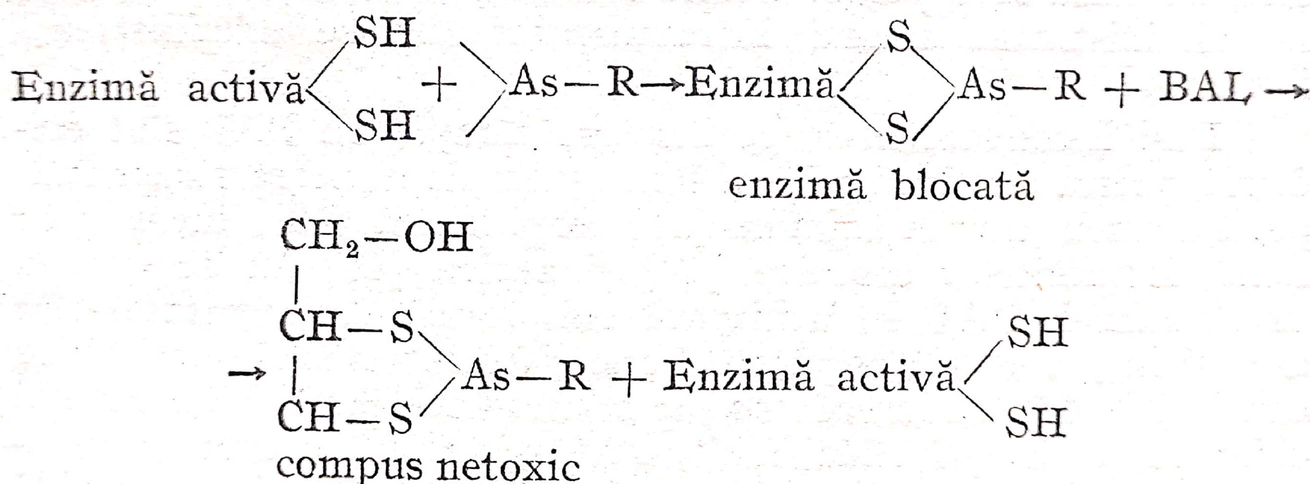
Prin urmare, sub acţiunea BAL se eliberează grupele tiolic ale tioloenzimelor, restabilindu-se astfel activitatea enzimatică BAL s-a dovedit eficient şi în evitarea unor accidente terapeutice prin supradozaj, cu medicamente ce conţin arsen, aur, mercur şi stibiu [40]. Dealtfel, BAL a fost utilizat cu rezultate foarte bune şi în intoxicaţiile cu alte metale grele, cum sînt Cu(II), Bi (III), V(V) şi altele. În general, ionii metalelor grele îşi datorează acţiunea lor tioloprivă, legării lor la grupele —SH esenţiale ale unor enzime ca succinoxidaza, şi piruvicoxidaza din creier, pe care le blochează, iar BAL şi tiolii înrudiţi formează, cu ionii metalici, chelaţi mai stabili decît cei ai enzimelor blocate. Prin urmare este vorba, în acest caz, de o chelatare competitivă, prin care sînt eliberate grupele —SH esenţiale ale enzimelor (respectiv ale acidului lipoic, care este cofactor în sistemele enzimatice menţionate).

puşi tiolici au o toxicitate mai redusă, eficienţă de mascare mare, de aceea se utilizează în terapia unor intoxicaţii cu metale grele.

Se ştie că BAL(British Anti Lewisite), respectiv 2,3-dimercaptopropanolul, a fost utilizat în primul război mondial ca antidot împotriva intoxicaţiilor arsenice produse de lewizită [39]. Reacţia pe care se bazează acţiunea sa este următoarea:



În organism, arsenul are, printre altele, o acţiune tioloprivă, blocînd grupele tiolice ale unor enzime, ceea ce determină perturbaţii grave ale unor procese biochimice importante. Acest proces de blocare, ca şi acţiunea de mascare a arsenului cu BAL se pot reprezenta astfel:



Prin urmare, sub acţiunea BAL se eliberează grupele tiolic ale tioloenzimelor, restabilindu-se astfel activitatea enzimatică BAL s-a dovedit eficient şi în evitarea unor accidente terapeutice prin supradozaj, cu medicamente ce conţin arsen, aur, mercur şi stibiu [40]. Dealtfel, BAL a fost utilizat cu rezultate foarte bune şi în intoxicaţiile cu alte metale grele, cum sînt Cu(II), Bi (III), V(V) şi altele. În general, ionii metalelor grele îşi datorează acţiunea lor tioloprivă, legării lor la grupele —SH esenţiale ale unor enzime ca succinoxidaza, şi piruvicoxidaza din creier, pe care le blochează, iar BAL şi tiolii înrudiţi formează, cu ionii metalici, chelaţi mai stabili decît cei ai enzimelor blocate. Prin urmare este vorba, în acest caz, de o chelatare competitivă, prin care sînt eliberate grupele —SH esenţiale ale enzimelor (respectiv ale acidului lipoic, care este cofactor în sistemele enzimatice menţionate).

În terapia cu BAL, s-au constatat şi unele neajunsuri. Aşa, de exemplu, în afară de mirosul său neplăcut, însoţit de vărsături şi greţuri, BAL se oxidează fiind instabil în mediu apos, de aceea se utilizează în soluţie uleioasă, motiv pentru care se elimină încet din organism. La acestea se adaugă unele efecte toxice, putînd produce apatie, reacţii oculare, eriteme cutanate, creşterea amplitudinii mişcărilor respiratorii, hipertensiune prin vasoconstricţie musculară şi cutanată, micşorarea diurezei prin stimularea hormonului antidiuretic pituitar superior, acidoză (prin creşterea concentraţiei bioxidului de carbon din sînge, a acidului lactic şi a acizilor aminaţi), scăderea natremiei, hiperglicemie prin blocajul insulinei[1] etc. Deoarece BAL poate complexa ionii Ca (II) şi Mg(II), el poate micşora concentraţia calciului sanguin. De aceea, tratamentul cu BAL trebuie să se facă sub supraveghere medicală de specialitate, prin administrare de cel mult 3mg/kg. Soluţia uleioasă de BAL se absoarbe mai încet, deci are o acţiune prelungită, dar poate determina efecte toxice secundare dacă se depăşesc dozele toxice. Din acelaşi motiv, BAL se administrează numai intramuscular (nu se administrează intravenos).

Deşi inconvenientele ce însoţesc terapia cu BAL sînt evidente, acesta este încă cel mai bun agent de mascare terapeutică pentru arsen, atît la animale [41] cît şi la om [42], inclusiv în cazul dermatitelor arsenice [43] şi aurice [44] (în aceste din urmă cazuri, BAL se utilizează sub formă de unguente). De asemenea , BAL dă rezultate bune şi în intoxicaţiile mercurice acute [45, 46], deoarece are loc o excretare bună a mercurului chiar din creier [47]. Mai mult, BAL determină o excreţie renală a mercurialelor radioactive, mai eficientă [48] şi mai rapidă decît aceea determinată de Ca-EDTA-Na_2 [49] (administrarea BAL se face în astfel de cazuri intraperitoneal, deoarece administrarea orală este ineficace [50], atît în ceea ce priveşte mercurialele anorganice cît şi cele organice [51]). Dealtfel, nici EDTA şi nici N-acetil-DL-Penicilamina nu sînt eficace, dacă sînt administrate oral.

Rezultatele bune se obţin şi în terapia cu BAL a intoxicaţiilor cu cupru [52] şi a bolii lui Wilson [53], constatîndu-se că viteza de eliminare a cuprului din ceruloplasmină [54], prin agenţi de mascare scade în ordinea: BAL > EDTA > Dietilditiocarbamat > Penicilamină. Trebuie remarcat că BAL este un agent de mascare eficient şi în terapia intoxicaţiilor cu Cr(III), Ni(II), dar nu este eficace în intoxicaţiile cu taliu, selen şi plumb [55], deşi unii autori au reuşit să trateze intoxicaţia talică [56] ce-i drept utilizînd cantităţi mari de BAL. Fapt curios, BAL

nu este eficient în intoxicațiile cu plumb (sînt necesare doze mari, care sînt toxice), dar asociat cu Ca-EDTA-Na_2, se obțin rezultate mai bune, în tratamentul encefalopatiei cu plumb la copii [57—59], decît numai cu EDTA.

Tratamentul cu BAL nu se poate aplica în hipertensiune, leziuni hepatice și în intoxicații cu cadmiu (deși formează cu acesta din urmă un complex stabil), deoarece complexul Cd-BAL afectează rinichiul [60].

În afară de BAL, mai există încă numeroși alți tioli care ar putea fi utilizați pentru mascarea ionilor metalelor grele. Rezultatele bune obținute cu BAL au determinat intensificarea cercetărilor pentru obținerea unor noi tioli, însă testările biologice au arătat că majoritatea compușilor tiolici sînt foarte toxici. De aceea, în terapie nu se pot utiliza decît puțini dintre compușii obținuți. În acest sens, se pot aminti dimercaptopropansulfonatul de sodiu, mai solubil în apă decît BAL, acidul 1,3-ditiooctanoic [61], β-mercaptoetilamina [62], cisteina și acidul tiooctanoic [63] etc. (Fig. 11. I. a, b, c,).

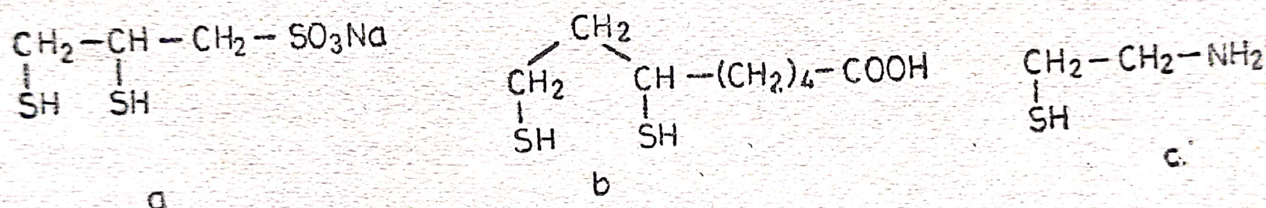


Fig. 11.I. Dimercaptopropansulfonat de sodiu (a), acidul 1,3-ditiooctanoic (b) și β-mercaptoetilamina (c).

Dintre aceștia, β-mercaptoetilamina este mai puțin toxică și se poate utiliza sub formă de injecții intravenoase ca antidot în intoxicații talice [62]. De asemenea, dimercaptosuccinatul de zinc, a cărui toxicitate este mai mică decît aceea a BAL, a dat rezultate bune în intoxicațiile cu arsen și mercur [64]. Acest agent de chelatare mărește și excreția plumbului, a cărui concentrație în ficat scade simțitor [65, 66]. Mai mult, s-a constatat că la șoarecii intoxicați cu plumb, acest agent de mascare determină o excreție a plumbului, comparabilă cu excreția determinată de Ca-EDTA-Na_2 [65], favorizînd în același timp și excreția cadmiului [63], fapt observat la iepurii intoxicați cu cadmiu, ceea ce-l recomandă ca antidot în intoxicațiile cu plumb și cu cadmiu.

Unii tioli măresc excreția renală a diureticelor mercurice (la iepuri) [67], putînd fi utilizați prin urmare ca antidoturi și în intoxicațiile mercurice. De asemenea, acidul dihidrotiooctic [61]

s-a dovedit a fi la fel de eficient ca și BAL în intoxicațiile arsenice, dar are avantajul că se poate administra mai ușor și produce mai puține efecte secundare decît BAL.

În afară de antidoturile menționate au mai fost testați în acest scop unitiolul (în intoxicațiile cu arsen și mercur [68]), metil și etilxantații de potasiu (în intoxicațiile cu mercur, caz în care sînt mai puțin toxici decît BAL [69]), dietilditiocarbamatul de sodiu [70] care este de asemenea mai puțin toxic decît BAL etc. În intoxicațiile cu Ni(II) și Tl(III) a mai fost încercată și ditizona, care este însă destul de toxică și în plus extrage zincul din enzimele ce-l conțin, inactivîndu-le. În ultimul timp, se utilizează ca înlocuitor al BAL, un compus BAL-glucozidă, care fiind mai puțin toxic poate fi administrat în doze de cca trei ori mai mari decît BAL (10 mg/kg, față de cel mult 3 mg/kg în cazul BAL).

11.4. APLICAȚII TERAPEUTICE ALE D-PENICILAMINEI

Există trei penicilamine și anume L-penicilamina, D-penicilamina și DL-penicilamina, ultimele două avînd configurație sterică analoagă. L-penicilamina (β, β-dimetilcisteina) a fost identificată în urina bolnavilor cu tulburări hepatice, tratați cu penicilină administrată parenteral [71]. Însă, în general, nu se recomandă în scop terapeutic L-penicilamina și DL-penicilamina, deoarece au efecte toxice pronunțate, manifestate prin dereglarea metabolismului piridoxalului, dereglare pe care D-penicilamina nu o produce, aceasta fiind deci mai puțin toxică decît primele două [72, 73]. Din aceste considerente, în terapia unor intoxicații cu metale grele se utilizează numai D-penicilamina (Fig. 11. II), sau derivatul său N-acetilat (în intoxicațiile cu mercur, necomplexînd cobaltul „fiziologic" [74]).

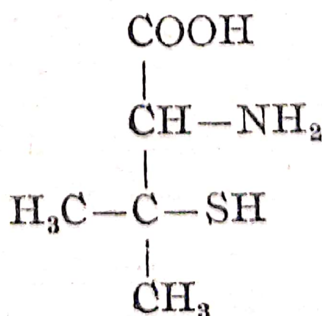


Fig. 11.II. D-penicilamina.

D-penicilamina a fost utilizată cu rezultate foarte bune în tratamentul bolii lui Wilson [75], care, aşa cum se ştie, constă în degenerarea hepatolenticulară, caracterizată prin dispunerea intracelulară a cuprului în ficat şi creier. Faţă de BAL, D-penicilamina are avantajul că este mai puţin toxică, solubilă în apă, fiind stabilă în soluţie şi putîndu-se administra şi oral, în doze mari, deoarece este excretată mai uşor şi mai repede decît BAL. Deoarece bolnavilor ce suferă de boala lui Wilson nu li se poate aplica un tratament alternativ satisfăcător, ei sînt trataţi zilnic, timp îndelungat (mai multe luni sau chiar ani) cu D-penicilamină [76]. În plus, în cazul unor pacienţi asimptomatici, dar susceptibili de a suferi de boala lui Wilson din motive genetice, atacul bolii poate fi împiedicat prin tratament preventiv cu D-penicilamină [77]. De această măsură profilactică, precum şi de justificarea ei în anumite cazuri, s-au ocupat numeroşi cercetători [78—80].

În afară de această utilizare principală a D-penicilaminei, aceasta s-a dovedit a fi eficientă şi în terapia unor intoxicaţii cu plumb anorganic [81, 82]. Este adevărat că, în unele cazuri, este necesară continuarea ulterioară a tratamentului, pentru eliminarea completă a plumbului. Eficienţa D-penicilamine. în excretarea plumbului depinde de modul de administrarei Astfel, administrarea intravenoasă are eficienţa maximă, iar administrarea orală are o eficienţă mică. În general, eficienţa D-penicilaminei, administrată chiar intravenos, este mai mică decît aceea a Ca-EDTA-Na_2 [82], care se administrează sub formă de perfuzii diluate lente, putînd străbate relativ uşor membranele celulare. În plus, eliminarea se face încet, deci are o acţiune prelungită. Dealtfel, Ca-EDTA-Na_2 are o eficienţă şi un spectru mai larg de acţiune, putîndu-se utiliza şi în intoxicaţiile cu aluminiu, crom, mangan, nichel, cadmiu, cupru, fier şi vanadiu, motiv pentru care are o specificitate mai redusă. La noi se utilizează Cuprenilul, care conţine D-penicilamină, pentru tratamentul intoxicaţiilor cu mercur, cupru, plumb, ca şi în boala lui Wilson, hemosideroză, litiază urică, macroglobulinemie, cistinurie, artrite reumatoide [130].

Trebuie menţionat că tratamentul cu D-penicilamină poate produce şi reacţii adverse. În literatură se citează cazuri (rare) de apariţie, după un tratament de 13 luni, a sindroamelor autoimune, respectiv miastenie, pacienţii prezentînd ptoză palpebrală dreaptă, apoi bilaterală [83]. Prin întreruperea tratamentului cu D-penicilamină şi administrarea de clorură de edrofoniu, ptoza a dispărut.



Se știe că penicilamina a fost multă vreme utilizată în terapia majoră a poliartritei reumatoide. S-a observat însă că ea dă unele efecte adverse, ca erupții cutanate, anorexie, greață, proteinurie, atingere hematologică (trombocitopenie sau neutropenie). Dacă administrarea penicilaminei se face cu prudență (începerea tratamentului cu 150 mg/zi, doză ce se majorează treptat cu cîte 150 mg, din patru în patru săptămîni), controlîndu-se lunar proteinuria, concomitent cu controlul hematologic (leucocite, trombocite), nu se înregistrează complicații grave (ca agranulocitoză, anemie aplastică, trombocitopenie etc. [84])

11.5. APLICAȚII TERAPEUTICE ALE DESFERIOXAMINEI B

În organismele vii, inclusiv în microorganisme, se găsesc unii chelați naturali ai Fe(III), denumiți ferioxamine, printre care ferioxamina B [85] și alte ferioxamine, denumite și sideramine, (sînt de fapt tot ferioxamine). Ferioxamina B, izolată în 1960 din culturi de Streptomyces Pilosus Ettlinger, a fost ulterior sintetizată și în laborator [86]. În general, ferioxaminele se găsesc numai în bacterii, avînd rol important în fixarea enzimatică a fierului (III) în scheletul porfirinic. În ferioxamine, fierul este hexacoordinat prin trei grupe de acid hidroxamic, așa cum rezultă din Fig. 11.III și 11.IV.; acești complecși che-

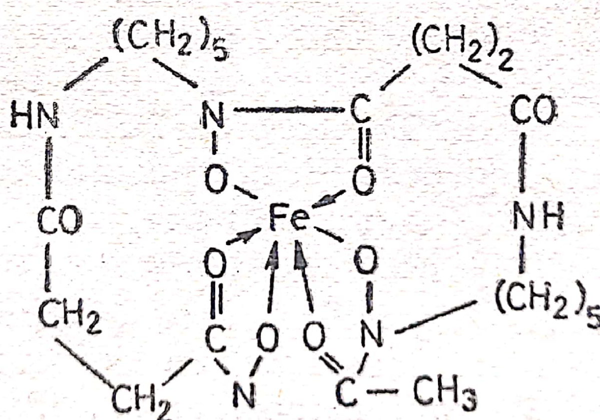


Fig. 11.III. Ferioxamina B.

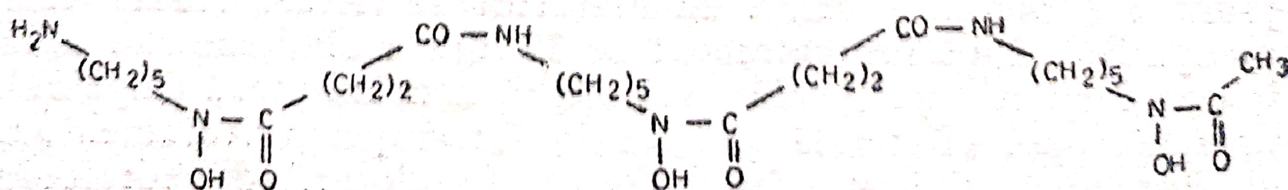


Fig. 11.IV. Desferioxamina B.

lați fiind stabili, constantele lor de stabilitate au valori foarte mari [87].

Desferioxaminele corespunzătoare ferioxaminelor, se pot obține din acestea din urmă prin eliminarea Fe(III) cu acizi tari. Desferioxaminele au o mare specificitate pentru Fe(III), pe care-l chelatează prin legături puternice (configurație octaedrică), manifestînd față de alți ioni metalici o afinitate slabă. Mai mult, desferioxamina B (Fig. 11.IV) nu extrage Fe(II), din citocromi și nici din hemoglobină. De asemenea, acest agent chelatant nu chelatează o serie de ioni metalici biologic activi, cum sînt Ca(II), Mg(II), Cu(II), Zn(II), Mn(II), Mo(VI) și alții.

Cea mai mare parte a fierului plasmatic este fixat și transportat de o proteină numită transferină, care are rol de transport (stocare) a fierului liber din sînge, sub concentrația toxică. În același timp, transferina disponibilizează fierul pentru eritropoieză, care se realizează prin intermediul hematiilor mature. Fapt interesant, desferioxamina, în condiții fiziologice, poate chelata fierul din depozitele de fier chiar în prezența transferinei, dar nu poate deplasa transferina din chelatul său cu fierul [88]. Aceasta înseamnă că desferioxamina nu poate chelata Fe(III) dacă acesta este legat de transferină. Pe de altă parte, desferioxamina poate și transporta fierul, exceptînd fierul din complexul Fe-porfirină [89].

Desferioxamina are avantajul că, deși este solubilă în apă, este puțin absorbită în tractul gastrointestinal, ceea ce o face aptă pentru terapia hemocromatozei (siderozei). Se utilizează ca atare sub denumirea de desferal sau sub forma metansulfonatului său. În hemocromatoza idiopatică, boală determinată de o anomalie metabolică, are loc o absorbție excesivă a fierului, care este depozitat mai ales în ficat, splină și în alte organe. Desferioxamina B poate fi, prin urmare, utilizată în regularizarea concentrației fierului în dieta bolnavilor de hemocromatoză, dietă ce trebuie să fie săracă în fier. De fapt, în hemocromatoză se pun două probleme și anume blocarea fierului din alimente cu desferioxamină administrată oral ceea ce determină o reducere considerabilă a absorbției fierului din alimente [90, 91]) și eliminarea fierului din depozite. Pentru eliminarea fierului din depozite, se administrează tot desferioxamină B, dar intravenos sau intramuscular [90, 92]. Administrarea intravenoasă a desferioxaminei în acest scop se face prin introducerea înceată a acesteia în sînge, pentru a nu realiza concentrații toxice [93, 94], iar pe de altă parte pentru a facilita excreția renală a complexului format.

Dacă trebuie tratată o intoxicație cu fier, administrarea desferioxaminei se face atît oral cît și intravenos. Administrarea orală are rol de fixare a fierului din tractul digestiv (pentru a împiedica acțiunea ulterioară a fierului absorbit), iar administrarea intravenoasă are rolul de fixare (mascare) a fierului absorbit deja. În acest fel se îmbunătățește considerabil prognoza în intoxicațiile cu fier [95, 96].

De remarcat că în hemocromatoză și, în general, în intoxicațiile cu fier nu se poate utiliza EDTA, mai ales că sînt necesare doze relativ mari, deoarece se știe că acesta nu este selectiv și prin urmare poate produce scăderea concentrației altor ioni necesari organismului, cum sînt Mn(II) și mai ales Zn(II) [97]. În unele cazuri, utilizarea EDTA poate duce chiar la o absorbție mărită a fierului [98]. În schimb, în unele intoxicații cu fier, a fost aplicată terapia cu DTPA [99—101], care este mai puțin toxic decît desferioxamina [101], dar cu toate acestea desferioxamina rămîne antidotul cel mai bun, mai eficient și mai selectiv în intoxicațiile cu fier. În intoxicațiile experimentale cu sulfat de fier (II), la șoareci, a fost încercat ca antidot hexacianoferatul (II) de sodiu și de potasiu [102]. S-a constatat că dacă acest antidot se administrează oral imediat după intoxicația animalelor (cu sulfat de fier injecții), este mai eficient decît EDTA, DTPA, CDTA etc. Dacă antidotul este administrat oral ulterior, mai tîrziu, eficiența tratamentului scade mult.

În sfîrșit, desferioxamina B a fost încercată și în vederea terapiei unor intoxicații cu radioelemente. Astfel, s-a observat că acest agent chelatant a dat rezultate satisfăcătoare la eliminarea plutoniului din șobolanii intoxicați cu acest element [103], dar eliminarea este mai puțin eficientă decît în cazul utilizării DTPA. În general, în intoxicațiile cu radioelemente, desferioxamina B și DTPA dau rezultate mai puțin satisfăcătoare decît alți agenți chelatanți. Spre exemplu, administrînd la șobolani sarea dublă de calciu și sodiu a acidului 2-(β-aminoetoxi)-ciclohexilaminotetraacetic [104], concomitent cu $^{59}FeCl_3$, eliminarea fierului este mult mai eficientă decît cu desferioxamină sau cu DTPA.

11.6. APLICAȚII TERAPEUTICE ALE Co_2EDTA

Spre deosebire de CaEDTA sau de Ca-EDTA-Na_2, care se utilizează ca agenți de mascare în intoxicațiile cu ioni ai metalelor grele, Co_2EDTA se utilizează ca agent de mascare

pentru anionul CN^-, care produce intoxicații foarte grave, adesea cu sfîrșit letal. Ideea de la care s-a plecat este foarte simplă și anume, dacă anionii în general pot servi ca agenți de mascare pentru cationi, se poate proceda și invers, folosind cationi capabili să mascheze anioni. S-a arătat însă (vezi capitolul mascarea) că puțini anioni se pot masca cu cationi.

În intoxicațiile cu cianură, s-a pus mai întîi problema găsirii unui cation capabil de a forma, cu anionul cianură, un complex foarte stabil, care să nu fie toxic. Și într-adevăr, Co(II) formează cu ionul CN^- complexul anionic $Co(CN)_6^{4-}$ foarte stabil ($K_i = 8{,}13 \cdot 10^{-20}$). Pe de altă parte, s-a pus problema formei de administrare a cobaltului, cea mai potrivită fiind Co_2EDTA [105—109] Rezultatele clinice obținute sînt foarte bune, însă după rezolvarea intoxicației este necesară eliminarea Co(II) eliberat de Co_2EDTA, care n-a reacționat cu cianura. Pentru aceasta se administrează Ca-EDTA-Na_2, care chelatează cobaltul după reacția:



$$Co^{2+} + \text{Ca-EDTA-Na}_2 \rightarrow \text{CoEDTA-Na}_2 + Ca^{2+}$$

Tot pentru tratamentul intoxicațiilor cu cianură se mai pot utiliza complecșii Co-desferioxamină și acvocobalamina [110] (care sînt ceva mai eficienți, dar și mai puțin accesibili decît Co_2EDTA), Co-histidina [111], Co(II)-dimercaptopropansulfamat [109[sau hexanitrocobaltiatul trisodic, $Na_3Co(NO_2)_6$ [112].

Se știe că în intoxicațiile cu cianură, se pot utiliza și nitriții, mai ales în cazuri de forță majoră cînd nu există un alt remediu mai potrivit la îndemînă. Însă nitriții transformă hemoglobina în methemoglobină, care cu ionul cianură formează cianmethemoglobina [107], scăzînd astfel concentrația hemoglobinei. O acțiune similară se pare că au și grupele nitro din hexanitrocobaltiatul (III) de sodiu, de aceea se preferă de regulă Co_2EDTA, care este eficient și mai accesibil.

11.7. UNELE IMPLICAȚII CELULARE ALE TERAPIEI PRIN CHELATARE

În afară de acțiunea propriu-zisă de mascare prin chelatare a agenților chelatanți, pe care se bazează tratamentul unor intoxicații cu metale grele, agenții de mascare produc concomitent și unele efecte directe asupra celulei. Aceste acțiuni sînt

strîns legate de unele microelemente existente în celulă, respectiv în compușii biologic activi existenți în aceasta.

Spre exemplu, se știe că unele microorganisme cum este bacilul Koch, au nevoie de ioni de Cu(II), conținut în unele enzime. Prin administrarea unor medicamente tuberculostatice (etionamida, etambutolul etc) are loc complexarea, prin chelatare, a cuprului, blocîndu-se astfel rolul ionului Cu(II) în metabolismul bacilului Koch. Deci absența unuia dintre ionii metalici esențiali este suficientă pentru a împiedica creșterea microorganismelor. Pe de altă parte, și o concentrație prea mare a unui ion metalic poate fi stînjenitoare, deoarece poate atinge nivele toxice de concentrație. Pentru exemplificarea multiplelor efecte ale agenților de mascare chelatanți, în cele ce urmează se fac referiri privitoare la acțiunile unor acizi aminopolicarboxilici de tip EDTA și compuși înrudiți și mai puțin în legătură cu alte clase de liganzi.

Există numeroase cercetări referitoare la utilizarea agenților de mascare cu rol de tampon în menținerea constantă a concentrației unor ioni metalici liberi în mediile de cultură. Spre exemplu, EDTA a fost utilizat în acest scop, pentru complexarea și solubilizarea unor ioni metalici, în medii de cultură microbiologice [113—115], ca și în țesuturi vegetale [116, 117]. În general, concentrația ionilor metalici variază în funcție de modificarea liganzilor prin metabolizarea sau eliminarea lor din organism. Este deja dovedit faptul că agenții de mascare prin chelatare produc anumite efecte celulare, de care trebuie să se țină seama, deoarece în terapia prin chelatare nu se poate urmări numai îndepărtarea toxicului din organism, ci trebuie să se aibă în vedere și efectele secundare, adesea neplăcute, care succed terapia intoxicațiilor. Spre exemplu, indiferent de modul de administrare a soluțiilor de EDTA, acesta elimină și ionii de calciu și de magneziu atît din lichidele celulare cît și din membranele celulare. În literatură [118—120] se admite că pierderea ionilor Ca(II) și Mg(II) sub acțiunea EDTA, determină pe de o parte creșterea permeabilității celulare, iar pe de altă parte scăderea rezistenței unor bacterii gramnegative la antibiotice [119]. De asemenea, EDTA și glicina produc o sensibilizare a celulelor de Brucella phage la liză [121], iar zonele periferice ale celulelor de ascitosarcom-37 se deformează mai ușor dacă sînt incubate în soluție de EDTA [122], tot datorită eliminării ionilor de calciu. Aceste efecte de deformare dispar însă dacă celulele de ascitosarcom-37 se reincubează într-o soluție de săruri solubile de calciu. De asemenea, agregarea plăcuțelor sanguine (indusă de ADP sau colagen) este împiedicată prin

eliminarea calciului de către EDTA sau EGTA [123], care-l chelatează, dar acest efect dispare la adăugarea unor săruri solubile de calciu sau de magneziu. În sfîrșit, eliminarea ionilor de calciu sub acțiunea EDTA, oprește fixarea leucocitelor de vasele inflamate [125]. Aceste acțiuni asupra celulelor se explică prin ușurința cu care se elimină calciul, pînă la 90%, sub acțiunea EDTA. Așa, de exemplu, spălarea eritrocitelor umane cu o soluție de EDTA poate elimina 90% din calciul eritrocitar [124], fără a produce hemoliza acestora. În aceeași ordine de idei se poate menționa faptul că, prepararea unei culturi de virus poliomielitic inactivat sau atenuat se poate stabiliza prin adăugare de EDTA [126], care complexează, prin chelatare, ionii metalelor prezenți în cultură.

Foarte interesantă este acțiunea EDTA și EGTA asupra complexării Ca(II) și Mg(II) de către microzomi. Experiențele făcute pe microzomi din ficat de șobolan, la pH fiziologic, sînt edificatoare în acest sens. Spre exemplu, creșterea concentrației EDTA de la zero la 20 mM produce o scădere însemnată a legării calciului de către microzomi [127], dar legarea magneziului crește la început, pentru ca apoi să descrească și ea considerabil. Aceasta se datorește faptului că, la început, se chelatează numai calciul, complexul Ca-EDTA fiind mai stabil, timp în care magneziul continuă să fie legat de către microzomi, iar după consumarea calciului este complexat și magneziul. Dacă în loc de EDTA se utilizează EGTA, descrește numai legarea calciului de către microzomi, legarea magneziului nefiind influențată, deoarece complexul Mg-EGTA este puțin stabil.

În sfîrșit, dacă se tratează măduva osoasă cu EDTA, are loc o scădere a concentrației oxigenului din celulele acesteia, datorită chelatării cationilor de la suprafața lor [128], efect care împiedică acești cationi să activeze sistemele enzimatice din interiorul celulelor.

Dintre ceilalți agenți de mascare se pot remarca acidul chinaldinic, 1,10-fenantrolina și 2,2′-dipiridilul, care, pin chelatarea unor ioni metalici esențiali pentru activitatea aconitazei, inhibă sporularea la Bacillus subtilis [129].

BIBLIOGRAFIE

1. Catsch, A., Arzneim. Forsch., 17, 493, 1967.
2. Kostial, K., Vojvodic, S., Maljkovic, T., Arh. Hig. Rada Toksikol, 18, 111, 1967.

3. Kubodera, A., Mori, T., Tsurufuji, S., J. Pharm. Soc. Japan, 87, 511, 1967.
4. Castagnou, R., Larcebau, S., *Cours de toxicologie*, U.E.R., des sciences pharmaceutiques, Université de Bordeaux, II, tome II.
5. Williams, D. R., *An introduction to Bio-Inorganic Chemistry*, Charles Thomas Publisher, Springfield, Illinois, USA, 1974.
6. Perrin, D. D., Masking and Demasking of chemical Reaction, Wiley-Interscience, London, p. 183, 1970.
7. Lapiere, C. L., Journal de Pharmacie de Belgique, 3—4, 115, 1968.
8. Haller, R., Hensel, W., Pharmazeutische Zeitung, 21, 786, 1973.
9. Seven, M. J., Johnson, L.A. (Eds.), *Metal-Binding in Medicine*, J.B. Lippincot Co., Philadelphia, 1960.
10. Jacobziner, H., Raybin, H. W., New York J. Med., 64, 441, 1964.
11. Vigliani, E. C., Zurio, N., Brit. J. Indust. Med., 8, 218, 1951.
12. Rieders, F., in *Metal-Binding in Medicine*, M. J. Seven, L. A., Johnson (eds). J. B. Lippincot Co., Philadelphia, 143, 1960.
13. Teisinger, J., Prevavsk, J., Sedivek, V., Proc. Lec., 19, 251, 1967.
14. Mehbod, H., J. Ammer. Med. Assoc., 201, 972, 1967.
15. Hammond, P. B., Aronson, A. L., Olson, W. C., J. Pharmakol. Exp. Ther., 157, 196, 1967.
16. Aronson, A. L., Hammond, P. B., Strofuss, A. C., Toxicol. Appl. Pharmacol., 12, 337, 1968.
17. Vahnitskii, A. S., Higiena Trude i Prof. Zabolevanija, 9, 54, 1965.
18. de Bruin, J., Nederl. T. Geneesk, 111, 824, 1967.
19. Martin, S., Boudene, C., Truhaut, R., Albohary, C., Arch., Maladies Profess. 24, 297, 1963.
20. Veliev, B. A., Tr. Inst. Kraevoi Patol. Nauk Kaz. SSR, 1, 198, 1962.
21. Rossi, A., Folio Med. (Naples), 50, 39, 1967.
22. O'Reilly, S., Bank, W., Nature, 212, 1597, 1966.
23. Davis, P. S., Deller, D. J., Australas. Ann. Med., 16, 70, 1967.
24. Woods, W. K., Smith, K. J., U. S. Pat. 3, 317, 378, 1967.
25. Vohra, P., Kratzer, F. H., Poultry Sci., 47, 699, 1968.
26. Hathcock, J. N., Hill, C. H., Matrone, G, J. Nutr., 82, 106, 1964.
27. Derville, P., Herant, L., Derville, E., 14 *th Intern. Congr. Occupational Health*, Madrid, 539, 1963.
28. Eybl, V., Sykora, J., Mertl, F., Acta. Biol. Med. Ger., 17, 175, 1966.
29. Eybl, V., Sykora, J., Acta Biol. Med. Ger., 16, 61, 1966.
30. Havlicke, F., Strahlentherapie, 134, 296, 1967.
31. Gundorova, R. A., Lenkevich, M. M., Tartakovskaja, A. J., Vestn. Offtal'mol., 80, 42, 1967.
32. Spencer, H., Greenberg, J., Berger, E., Perrone, M., Laszlo, D., J. Lab. Clin. Med., 47, 29, 1956.
33. Szekely, P., Wynne, N. A., Brit. Hearth. J., 25, 589, 1963.
34. Corday, E., Skelton, R.B.T., Ammer. Heart. J., 67, 237, 1964.

35. Barrie, H., Wilson, B.D.R., J. Am. Med. Assoc., 180, 244, 1962.
36. Weiner, M., Ann. N.Y. Acad. Sci., 119, 789, 1964.
37. Nosek, J., Chnidar, V., Vojenske Zdravot. Listy, 27, 224, 1958.
38. Spencer, H., Rosoff, B., Health Phys., 11, 1181, 1965.
39. Peters, R. A., Stocken, L. A., Thompson, R.H.S., Nature, 156, 616, 1945.
40. Saphir, J. R., Ney, R. G., J. Am. Med. Ass., 195, 782, 1966.
41. Eagle, H., Magnuson, H. J., Fleschman, R., J. Clin. Invest., 25, 451, 1946.
42. Eagle, H., Magnuson, H. J., Am. J. Syph. Gonor and Ven. Dis., 30, 420, 1946.
43. Cohen, A., Goldman, J., Dubbs, A. W., J. Am. Med. Assoc., 133, 749, 1947.
44. Ragan, C., Boots, R. H., J. Am. Med. Assoc. 133, 752, 1947.
45. Report of Council, J. Am. Med. Assoc., 131, 824, 1946.
46. Longcope, W. T., Lentscher, J. A., J. Clin. Invest., 1946.
47. Magos, L., Brit. J. Industr. Med., 25, 152, 1968.
48. Martinenghi, C., Riccardi, A., Roncari, G., Morvillo, V., Acta Isotop. (Padova), 6, 25, 1966.
49. Martinenghi, C., Riccardi, A., Franzetti, E., G. Fis. Sant. Radioprot. Radiaz., 10, 208, 1966.
50. Lehotsky, K., Bordas, S., Magy. Tud. Akad. Orv. Tud. Oszt. Kozlem, 18, 463, 1966.
51. Platonov, N., Can. Vet. J., 9, 6, 142, 1968.
52. Nath, R., Srivastava, S. K., Indian J. Exp. Biol., 6,2, 90, 1968.
53. Cumings, J. N., Brain, 71, 410, 1948.
54. Marriott, J., Perkins, D. J., Biochim. Biophys. Acta., 117, 395, 1966.
55. Braun, H. A., Lusky, L. M., Calvery, H. O., J. Pharmacol. and Exp. Ther., 87 (suppl), 119, 1946.
56. Grunfeld, O., New. Engl. J. Med, 269, 1138, 1963.
57. Chisolm, J. J., J. Pediat., 63, 843, 1963.
58. Chisolm, J. J., J. Pediat, 73, 1, 1968.
59. Coffin, R., Philips, J. L., Staples, W. J., Spector, S., J. Pediat. 69, 198, 1966.
60. Gilman, A., Philips, F. S., Allen, R. P., Koelle, E. S., Pharmacol. and Exp. Ther., 87 (suppl), 85, 1946.
61. Kawai, M., Rev. Int. Serv. Sante Terre. Mer. Air., 39, 861, 1966.
62. Heyndricks, A., Acta. Phramacol. et Toxicol., 14, 20, 1958.
63. Matsuda, Y., Gifu Daigaku Igakubu Kiyo, 15, 869, 1968.
64. Okoshnikova, I. E., Prom. Toksicol. i Klinika Prof. Zabolevanii Khim. Ethiol. Sb., 205, 1962.
65. Tati, M., Miyata, S., Matsuda, Y., Igaku to Seibutsugaku, 73, 35, 1966.
66. Matsuda, Y., Tati, M., Miyata, S., Igaku to Seibutsugaku, 76, 71, 1968.
67. de Simone, G. F., Cardinale, A., Brancato, G., Acta Isotop (Padova), 7, 181, 1967.

68. Luganskii, N. I., Loboda, Y. I., Farmacol. i Toxikol. Sb., 161, 1964.
69. Stoichev, T., Savremenna Med., 16, 356, 1965.
70. Soldatovic, D., Petrovic, C., Arh. Farm. (Belgrade), 17, 111, 1967.
71. Walshe, J. M., Quart. J. Med., 22, 483, 1953.
74. Kassem, A. A., E.-Samaligy, M. S., C. A., 80, 300, 14, 82335, 1974.
72. Wilson, J. E., du Vigneand, V., J. Biol. Chem., 184, 63, 1950.
73. Kuchinkas, E. J., Vigneaud, V., Arch. Biochim. Biophys., 66, 1, 1957.
75. Walshe, J. M., Amer. J. Med., 21, 487, 1956.
76. Lange, J., Deutsch. Med. Wschr., 92, 1657, 1967.
77. Sternlieb, J., Scheinberg, I. H., New Engl. J. Med., 278, 352, 1968.
78. Chalmers, T. C., New Engl. J. Med., 278, 910, 1968.
79. Walshe, J. M., New. Engl. J. Med., 278, 795, 1968.
80. Fagan, T. J., New. Engl. J. Med., 278, 1124, 1968.
81. Boulding, J. E., Baker, R. A., Lancet ii, 985, 1957.
82. Cramer, K., Selander, S., Postgrad. Med. J., Oct. 1968 (suppl), 45.
83. Czlonkowska, A., Brit. Med. J., 2, 5973, 726, 1975, în *Farmacovigilența*, Ed. Medicală, București, 1976.
84. Forette, B., Nouvelle Presse Med., vol. 3, 22, 1409, 1974, în *Farmacovigilența*, Ed. Medicală, București, vol. 4, 1974.
85. Bickel, H., Hall, G., Schierlein, W., Prelog, V., Vischer, E., Wettstein, A., Helv. Chim. Acta, 43, 2129, 1960.
86. Prelog, V., Walser, A., Helv. Chim. Acta, 45, 63, 1962.
87. Anderegg, G., L'Eplattainier, F., Schwarzenbach, G., Helv. Chim. Acta., 46, 1400, 1963.
88. Balcerzak, S. P., Jensen, W. N., Pollak, S., Scand. J. Haemat., 3, 205, 1966.
89. Keberle, H., Ann. N. Y. Acad. Sci., 119, 758, 1964.
90. Hopkins, S. J., Pharm. J., 139, 363, 1964.
91. Fahey, J. L., Rath, C. A., Princciotto, J. V., Brick, I. B., Rubin, M., J. Lab. Clin. Med., 57, 436, 1961.
92. Karlsson, B., Lagercrantz, R., Braun, I., Nord. Med., 74, 985, 1965.
93. Whitten, C. F., Gibson, G. W., Good, B. S., Goodwin, J. F., Bruigh, J. A., Pediatrics, 36, 322, 1965.
94. Whitten, C. F., Chen, Y., Gibson, G. W., Pediatrics, 38, 103, 1966.
95. Bannerman, R. M., Callender, S. T., Williams, D. L., Brit. Med. J., 1575, 1962.
96. Westlin, W. F., Clin. Pediat., 5, 531, 1966.
97. Tripod, J., Atti Acad. Med. Lombardia, Suppl., 20, 2057, 1965.
98. Bronson, W. R., Sisson, T.R.C., Am. J. Dis. Child., 99, 18, 1960.
99. Barr, D. G., Fraser, D.K.B., Brit. Med. J., 737(i), 1968.
100. Covey, T. J., J. Pediat., 64, 218, 1964.
101. Pfister, G., Catsch, A., Nigrovic, V., Arzneim.-Forschung, 17, 748, 1967.
102. Nigrovic, V., Catsch, A., Arch. Exp. Path. Pharmakol., 251, 225, 1965.

103. Truthaut, R., Boudene, C., Lutz, M., Metiner, H., Arch. Mal. Prof. Med Trav. Secur. Soc., 27, 669, 1966.
104. du Khuong, L., Arzneim.-Forsch. 15, 387, 1965.
105. Terzic, M., Milosevic, M., Therapie, 18, 55, 1963.
106. Werheim, H., Jacobs, K., Z. Arbeitsmed. Arbeitsschutz, 15, 5, 107, 1965.
107. Paulet, G., Arch. Maladies Profess., 22, 120, 1961.
108. Knowles, E. L., Bani, J.T.B., Chem. Ind. (London), 232, 1968.
109. Kolesov, O. E., Cherepanova, V. N., Farmakol. i Toxikol. Sb., 167, 1964.
110. Friedberg, K. D., Gruetzmacher, J, Landle, L., Arch. Toxickol., 22, 176, 1966.
111. Mercker, H., Bastian, G., Arch. Exp. Path. Pharmakol., 236, 449, 1959.
112. Worth, R. M., Kikuchi, K., Chen, K. K., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 120, 780, 1965.
113. Provasoli, L., McLanghlin, J. J., Droop, M. R., Arkiv. Mikrob., 25, 392, 1957.
114. Hutner, S. H., Provasoli, L., în A. Lwoff (ed.), *Biochemistry and Physiology of Protozoa*, vol. 1, Academic Press, New York, 29, 1951.
115. Hutner, S. H., Provasoli, L., Schatz, A., Haskins, C. P., Proc. Am. Phil. Soc. 94, 152, 1950.
116. Klein, R. M., Manos, G. E., Am. N.Y. Acad. Sci., 88, 416, 1960.
117. Meyers, J., Philips, J. N., Graham, J. R., Plant. Physiol., 26, 539, 1951.
118. Hamilton-Miller, J.M.T., Biochem. J., 100, 675, 1966.
119. Weiser, R., Asscher, A. W., Wimpeny, J., Nature, 219, 1365, 1968.
120. Leive, L., J. Biol. Chem., 243, 3273, 1968.
121. Jones, L. M., Merz, G. S., Wilson, J. B., Experientia, 24, 20, 1968.
122. Weiss, L., J. Cell. Biol., 33, 341, 1967.
123. Hovig, T., Thromb. Diath. Haemorrhag., 12, 179, 1964.
124. Harrison, D. G., Sidle, A. B., Biochem. J., 108, 40, 1968.
125. Thompson, P. L., Papadomitriou, J. M., Walters, M.N.I., J. Path. Bact., 94, 389, 1967.
126. French Pat., 1, 403, 608, 1965, Behringwerke, A.G.
127. Sanui, H., Pace, N., J. Cell. Physiol., 69, 11, 1967.
128. Gerinski, R. M., Morrison, J. H., Experientia, 24, 296, 1968.
129. Fortnagel, P. Freese, E., J. Biol. Chem., 143, 5289, 1968.
130. *** *Produse farmaceutice folosite în practica medicală*, Ed. Medicală,

CAPITOLUL 12

COMPLECȘI TERAPEUTIC ACTIVI

12.1. COMPLECȘI CONDIȚIONAȚI ÎN FORME FARMACEUTICE

Intoxicațiile cu metale grele sînt însoțite (sau datorate) de unele efecte ale acestora asupra diferitelor organe sau sisteme biologice din organism. Aceste deficiențe se pot corecta printr-o terapie adecvată.

12.1.1. Preparate cu aminoacizi

Așa de exemplu, sînt frecvent utilizate în ultima vreme unele preparate cu aminoacizi sub forma unor compuși chelați, sau nechelați, ai unor elemente esențiale, cum sînt Aspartase (aspartatul dublu de magneziu și potasiu [1], Calciretard (sau Aspara CA, aspartat de calciu), Syderil (Feraspartyl-aspartat de fier bivalent), aspartatul de zinc [2], Aspara K (aspartat de potasiu), Aspatofortul etc. Dealtfel, preparatele cu aminoacizi, implicate în metabolismul proteic, sînt numeroase și dintre acestea se mai pot aminti Folcisteina U-fiole, Glubiferul, Glutaromul, Multiglutinul etc. Folcisteina-U (care conține L-cisteină-HCl, hexametilentetramină și acid folic)este utilizată ca donor de grupe SH, pentru redresarea dereglării enzimelor ce conțin grupe SH. Pe de altă parte, preparatele cu acid glutamic (Glubifer-glutamat de fier (III), Glutarom și Multiglutin-conține glutamați de sodiu, potasiu și calciu) au rol important în regenerarea ficatului, fiind, de asemenea, implicați în metabolismul vitaminei B_{12} și al tioaminoacizilor, precum și în fixarea ionului amoniu, a cărui concentrație este crescută în afecțiunile hepatice cronice.

12.1.2. Complecși cu calciu și aluminiu

Dintre preparatele de calciu se pot menționa cîteva foarte importante. Astfel, Ca-Doxium, respectiv dobesilatul de calciu [3], este utilizat în afecțiuni vasculare pentru normalizarea permeabilității vaselor și deci pentru ameliorarea fragilității

acestora. Tot aici se poate menţiona gluconatul de calciu-fiole [3], care pe lîngă acţiunea de normalizare a permeabilităţii vasculare, îndeplineşte şi un rol plastic în formarea oaselor, fiind implicat în metabolismul apei şi în coagularea sîngelui. De asemenea, este antiinflamator şi antialergic. Sub forma de Ca-granulat este utilizat ca remineralizant, avînd şi acţiune antialergică, şi rol în coagularea sîngelui. Pantotenatul de calciu este un factor din grupa vitaminelor B, fiind utilizat în procese inflamatoare ale căilor respiratorii superioare şi în alte afecţiuni [3]. În sfîrşit, Calciparine (Choay-France), complex al calciului cu heparina, avînd aceeaşi acţiune ca şi aceasta (respectiv ca şi heparina sodică), prezentînd însă avantajul de a se putea administra subcutanat; heparinemia se face rapid şi are aceeaşi durată (peste 12 ore) ca şi cea realizată cu heparină intravenos. De asemenea, se poate administra şi à la long, fără a produce hemoragii.

Este interesant că terapia cu tetraciclină se bazează pe acţiunea chelatantă a acesteia, dar acest antibiotic chelatează şi calciul din oase, ceea ce produce tulburări în dezvoltarea oaselor şi a dinţilor, mai ales la copii.

Un alt preparat demn de menţionat este Ca-PAS, cu aplicaţii în tratamentul tuberculozei.

Dintre complecşii cu aluminiu, se utilizează, în terapie, acetotartratul de aluminiu (Liquor Burowi), care are acţiune antiinflamatoare, precum şi aluminodisulfatul de potasiu şi de amoniu, $KAl(SO_4)_2$ şi $NH_4Al(SO_4)_2$, care au acţiune antiseptică, emetică şi astringentă.

12.1.3. Preparate cu arsen, stibiu şi bismut

Deşi arsenul (III, V) şi Sb(III, V) precum şi Bi(III) sînt toxici pentru organism, unele preparate cu aceste elemente au importante aplicaţii terapeutice. Spre exemplu, unii compuşi organici ai As(III) ca Atoxylul, Acetarsona, Carbarsona şi Thiocarbarsona sînt utilizaţi în tratamentul unor amoebiaze, tripanosomiaze, iar Salvarsanul, Neosalvarsanul şi Arsfenamina [6, 7] sînt utilizaţi în tratamentul sifilisului. Dintre complecşii Sb(III) sînt utilizaţi în terapie Stibofenul (p-aminofenilstibonat), Anthiomaline (tiomalat de stibiu şi litiu), Astiban (ditiosuccinatul de stibiu) şi alţii, în tratamentul unor boli tropicale ca leishmaniazele, filariazele şi schistozomiazele [6, 7]. În sfîrşit, dintre

compuşii Bi(III) se utilizează Bismosal şi Bismuthi subsalicilas [5, 6, 7] în tratamentul sifilisului, iar tartratul dublu de bismut şi sodiu şi dicitratobismutatul de potasiu [8] se utilizează în tratamentul unor ulcere bucale, gastrice şi duodenale.

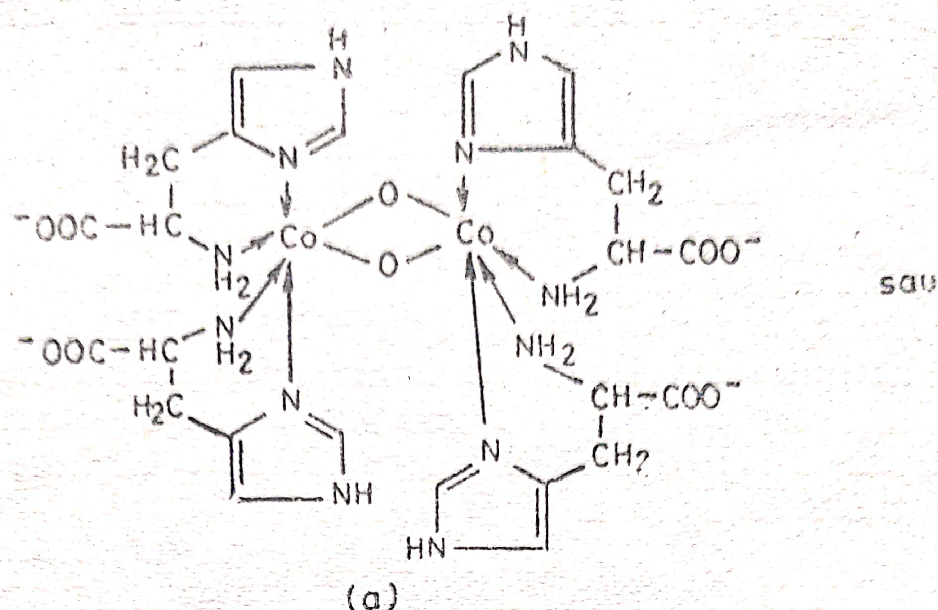
12.1.4. Complecşi cu fier

O importanţă terapeutică deosebită au complecşii (de regulă chelaţi) mai ales ai Fe(II), utilizaţi în tratamentul anemiei feriprive sau hipocrome miocitare. Dintre preparatele de fier, administrabile parenteral, se pot aminti Fe(II)-polimaltozat, Fe(III)-zaharat, Glubifer (Fe-III-glutamat), Inferon (Fe-II-dextran) [6], Ferrocholinate [6], Oxid de Fe(III)-coloidal injecţii [9], Fe(II)-rutină [10], Fe(II)-clorofilină-Vit. B_1 [11] etc, care sînt şi stimulente ale lactaţiei, creşterii, în sarcină şi în convalescenţă. Tot în tratamentul anemiilor se folosesc şi unele preparate orale ca Aktiferin ($FeSO_4 \cdot$ DL-Serină) [12], Ferronicum-Sandoz (Fe-II-gluconat) [13, 14], precum şi alţi chelaţi ai Fe(II) cu acidul citric [15], glucuronic [16], succinic [17, 18], oleic [19], fumaric [20], glicina [21], cisteina [22], histidina [23] etc. În aceeaşi ordine de idei, s-a observat că prin complexarea PAS cu Fe(II) rezultă un chelat (raport 2 : 1), proces prin care acţiunea tuberculostatică a PAS este mult potenţată [24] (complexul 1 : 1 este inactiv). Dealtfel, acţiunea terapeutică a unor substanţe medicamentoase se explică de asemenea prin acţiunea lor chelatantă. Astfel, acţiunea bactericidă şi fungicidă a 8-hidroxichinolinei [2] se explică prin chelatarea unor ioni metalici esenţiali din unele sisteme enzimatice bacteriene. În mod similar, se explică şi acţiunea antibiotică a tetraciclinei, streptomicinei, bacitracinei etc.

Unii dintre complecşii fierului au acţiune stimulatoare asupra sistemului nervos central (exemplu hematoporfirina, la noi Hematodin) sau sînt radioprotectoare faţă de radiaţiile UV sau electronice (complecşii Fe-II şi III cu mercaptoetilamina şi cu 2-mercaptoetilguanidina)[25]. S-a observat, de asemenea, la şoareci, că şi complecşii Fe(II) cu oxazoline au acţiune stimulatorie asupra sistemului nervos central [26].

12.1.5. Complecşi cu cobalt

Unii complecşi ai Co(II) sînt de asemenea terapeutic activi, avînd deci o însemnătate deosebită. Ionul Co(II) este component al vitaminei B_{12} (cianocobalamina), care este un chelat al cobaltu-



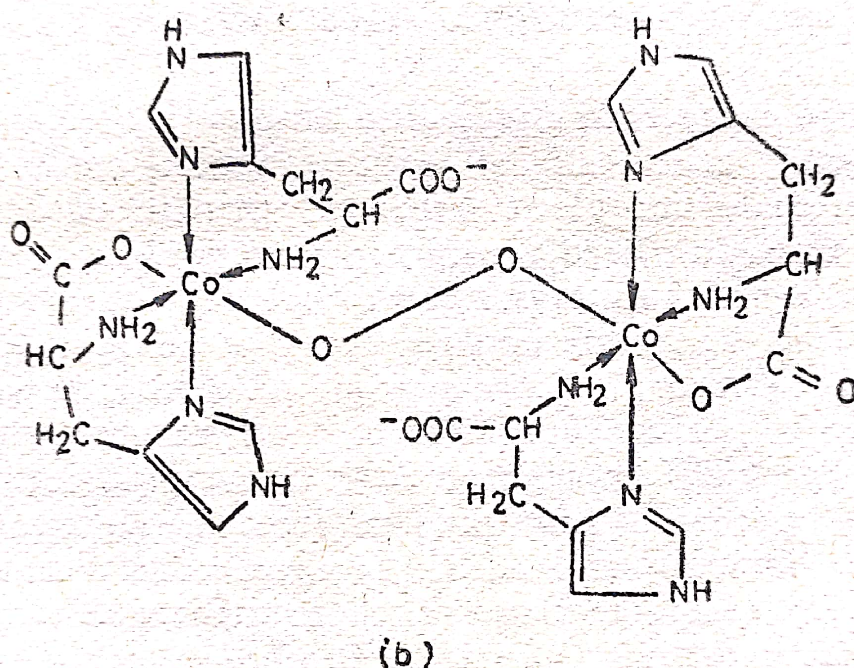
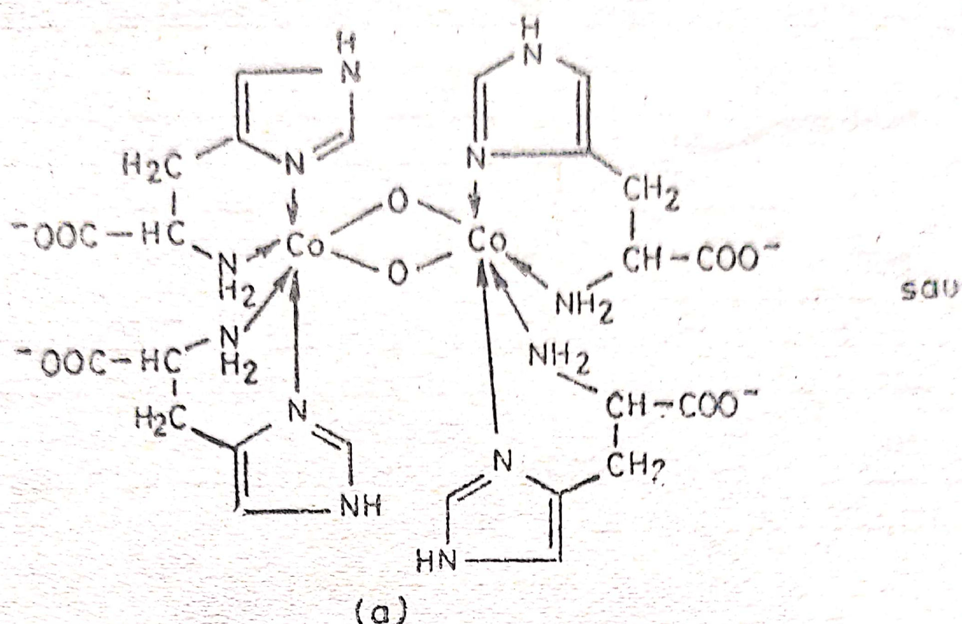


Fig. 12.I. Structura aductului $[Co(Histidină)_2]_2O_2$.

lui cu corina. Vitamina B_{12} are un caracter redox, de aceea intervine în biosinteza zaharurilor pentozice, a nucleozidelor purinice și pirimidinice, fiind implicată și în hematopoieză [6]. Dealtfel, în terapia anemiei pernicioase (anemia hipercromă miocitară) se utilizează, pe lîngă Vitamina B_{12}, și alți chelați ai Co(II) cu zaharide (zaharoză, maltoză, lactoză) [27], aminoacizi (cisteina, histidina Fig. 12.Ia și 12.I.b, metionina, acidul glutamic, acidul aspartic etc) [28, 29], cu acidul oleic [19], complexul clorofilină-Vitamina B_{12}[11] etc. Acești complecși au însă și alte acțiuni. Așa, de exemplu, complexul Co(II)-histidină, în doze mici, este hipopresor, dar în doze mari este



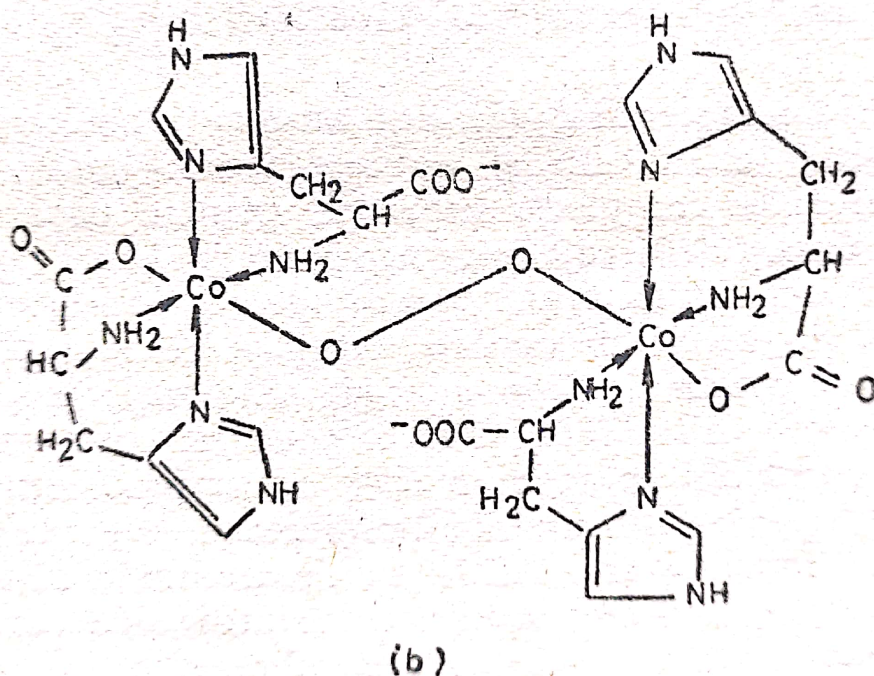


Fig. 12.I. Structura aductului $[Co(Histidină)_2]_2O_2$.

lui cu corina. Vitamina B_{12} are un caracter redox, de aceea intervine în biosinteza zaharurilor pentozice, a nucleozidelor purinice şi pirimidinice, fiind implicată şi în hematopoieză [6]. Dealtfel, în terapia anemiei pernicioase (anemia hipercromă miocitară) se utilizează, pe lîngă Vitamina B_{12}, şi alţi chelaţi ai Co(II) cu zaharide (zaharoză, maltoză, lactoză) [27], amino-acizi (cisteina, histidina Fig. 12.Ia şi 12.I.b, metionina, acidul glutamic, acidul aspartic etc) [28, 29], cu acidul oleic [19], complexul clorofilină-Vitamina B_{12}[11] etc. Aceşti complecşi

miocardo — și coronarotoxic. Rezultă de aici că utilizarea acestui complex în terapie trebuie să se facă în doze mici, sub supraveghere medicală. Totuşi, majoritatea chelaţilor cobaltului menţionaţi sînt utilizaţi mai mult ca modele pentru studierea interacţiunilor metal-proteine şi a rolului metaloproteinelor în reacţiile biochimice. În terapie, se utilizează, prin urmare, mai ales Vitamina B_{12}.

În sfîrşit, complecşii Co(II) cu PAS, HIN şi clorofilină [24] au acțiune antibiotică (și antifungică), iar complecșii cobaltului (II) cu baze Schiff aromatice au acțiune antitumorală [31, 30), iar cel cu delta-hidrocortizon are o acţiune diuretică, hematoformatoare și antiinflamatorie.

12.1.6. Complecşi cu argint şi cu aur

Unii dintre complecşii Ag(I), deşi au o acţiune oligodinamică şi dezinfectantă, manifestă şi acţiune iritant-corosivă locală. Totuşi, o serie de complecşi organici, printre care Argirolul, Protargolul, Colargolul (toţi complecşi cu proteine), precum şi Picrargolul şi lactatul de argint, au acţiune dezinfectantă locală, fiind utilizaţi în afecţiuni oculare (aceştia au şi acţiune antifungică). La acești complecși, se adaugă unii complecși ai argintului cu sulfamide, alantoină [32, 33] cu acţiune antiseptică, în timp ce complecşii cu cazeina [34] au acţiune antitumorală. În sfîrşit, Argentum tanninoalbuminicum (taninoalbuminat de argint) este un complex coloidal de diacetiltanin cu albuminat de argint (conţine cca. 6% argint) şi se utilizează ca antiseptic slab şi ca astringent în gastrite, duodenite, ulcer gastric şi duodenal, în infecţii oculare şi ale aparatului urinar.

Unii complecşi sau compuşi ai Au(I) şi complecşi ai Au(III) sînt utilizaţi în terapia lupusului eritematos, artritei reumatice sau a unor forme de neoplasm. Printre aceşti compuşi se numără Solganalul (Au-I-tioglucoza), Sanocrysin (aurotiosulfat de sodiu), Tauredon (aurotiomalat de sodiu) etc. Pe de altă parte, se cunosc şi unii complecşi ai Au(III) cu trialchilfosfine [35, 36] care au acţiune antiartritică, fiind administrabili în forme orale.

12.1.7. Complecşi cu zinc şi mercur

Zincul, microelement esenţial, implicat în activitatea unor enzime care-l conţin (anhidraza carbonică, dehidrogenaza, fosfataza alcalină, carboxipeptidaza), se găseşte în organism şi

în complexul zinc-insulină, hormon cu rol de control și reglare a metabolismului zaharurilor, proces de mare importanță în organism. Dintre preparatele cu acțiune antidiabetică se pot menționa Izofan-Zn-insulina și Insulin-Lente-Novo [5], ambele injectabile, iar dintre formele orale, cele ce conțin chelați ai zincului cu aminoacizi [37]. În afară de aceste preparate, se mai cunosc și altele, printre care chelați ai zincului cu acțiune antitumorală [38], antiseptică, antifungică sau cheratolitică [32].

Dintre compușii Hg(II) mai importanți sînt cei organici, utilizați ca antiseptice, cum sînt Fenoseptul (borat fenilmercuric), Tiomersalul și Nitromersalul, precum și acetatul fenilmercuric. La aceste preparate, se mai pot adăuga Mersalylul sau Salyrganul, care are o acțiune diuretică, explicabilă prin coordinarea mercurului cu grupele SH din enzimele ce acționează la nivelul rinichiului.

12.2. ALȚI COMPLECȘI CHELAȚI BIOLOGIC ACTIVI

Numeroși complecși sintetici au fost studiați pentru aplicarea lor în terapie și, pe măsură ce diferitele testări confirmă însușirile lor terapeutice, sînt oficializați. Alți compuși chelați nu ajung să fie oficializați, dar sînt utilizați pentru studierea mecanismului de acțiune al medicamentelor.

Foarte interesanți și importanți din punct de vedere teoretic și practic sînt complecșii chelați ai unor metale care au acțiune carcinostatică. Printre aceștia se numără unii chelați ai Ni(II), Pt(II, IV), Ru(IV), Rh(III), Pd(II) etc.

Așa, de exemplu, unii complecși ai Ni(II) cu tiosemicarbazone [39] (Fig. 12.II., 12.III., 12.IV., 12.V) sau cu proguanil [40] au acțiune antitumorală. Dintre tiosemicarbazone au fost utilizate benzaldehid-, salicil- și izatintiosemicarbazonele. Au fost studiați și unii complecși ai Ni(II) cu acțiune antineoplazică similară cu aceea a unor complecși ai platinei (cu structură analoagă) cum sînt [Ni(asp)Cl], $[Ni(asp)_2]Cl$, $[Ni(asp)_2ClOH]$ [41], toți cu simetrie plan-pătrată.

Numeroși complecși ai platinei manifestă acțiune antitumorală, antimicrobiană și antivirotică, care se pare a fi legate de configurația geometrică a moleculelor respective. Spre exemplu, hexacloroplatinatul de amoniu-$(NH_4)_2PtCl_6$- are o acțiune antibacteriană pronunțată, testată pe Escherichia coli.

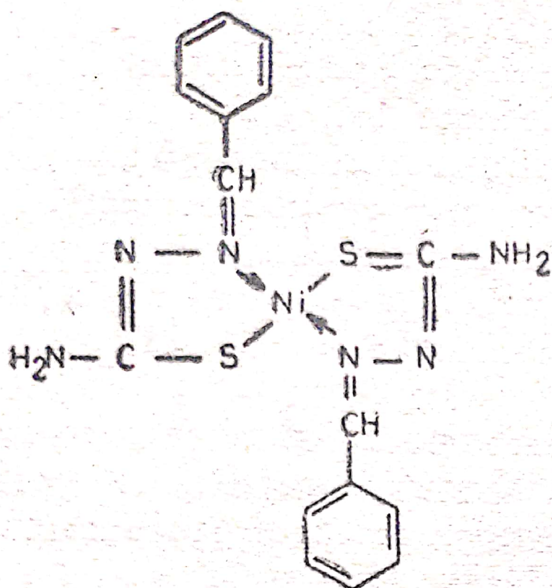


Fig. 12.II. [Ni(Benzaldehid-TSK)$_2$].

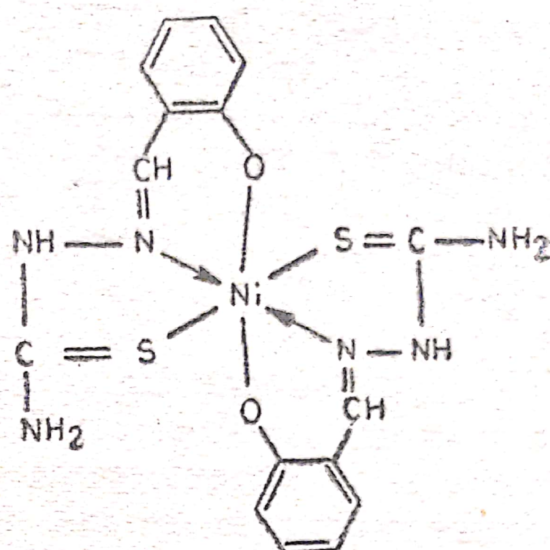


Fig. 12.III. [Ni(salicil-TSK)$_2$].

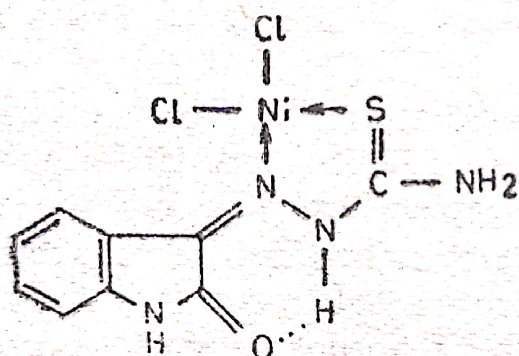


Fig. 12.IV. [Ni(isatin-TSK)Cl$_2$].

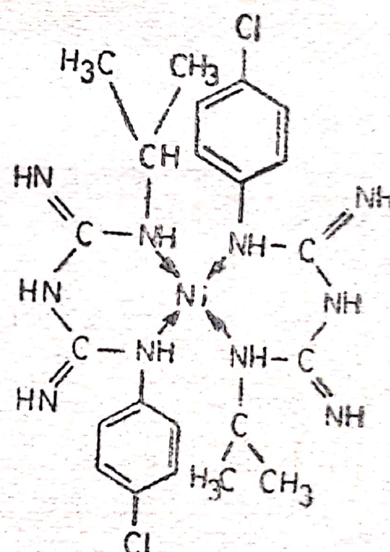


Fig. 12.V. [Ni(Proguanil)$_2$].

Această acțiune scade sau dispare prin înlocuirea ionilor Cl^- cu molecule de amoniac, dar $PtCl_4(NH_3)_2$ oprește totuși diviziunea celulară [42]. O acțiune similară arată și unii complecși ai Rh(I și III). În tabelul 12.1. sînt dați unii complecși cu acțiune antitumorală [43], menționîndu-se și tumoarea test utilizată,

Un fapt interesant este că numai izomerii cis au acțiune antitumorală [42—44]; dealtfel izomerii trans, pe lîngă că sînt inactivi, sînt și foarte toxici.

În general, pentru ca un complex metalic să aibă acțiune anticanceroasă, trebuie să îndeplinească unele condiții. Astfel, el trebuie să formeze cu ADN-ul tumoral, complecși plan-pătratici, de preferință forma cis, cu legături puternice predominant covalente. De asemenea, doi dintre liganzi (de regulă Cl^-, Br^-,

TABEL 12.1

Complecşi ai unor metale platinice cu acţiune antitumorală.

Ru(IV)	$K_2(RuCl_6)$; $K_2(RuCl_5NO)$	sarcom la şoareci
Rh(III)	$(Rh(SHth)_4Cl_2)Cl$	Carcinosarcom Walker 256 (la şobolan).
	$Na_3(Rh(SHth)_4Cl_2)$	
	$(NH_4)_2\ RhCl_6$	Leucemia ascitică Dunning
Pd(II)	trans-$Pd(SHth)_2Cl_2$	Carcinosarcom pulmonar Lewis
	cis-$Pd(NH_3)_2Cl_2$	
	Cis-$Pd(AA)Cl_2$	Leucemia P 388
	$\left[Pd\left((RO)_2P(S)S\right)_2\right]$	Carcinomul XV (la iepure).
Pt(II)	cis-$Pt(NH_3)_2Cl_2$	Sarcom 180 solid.
	cis-$Pt(NH_3)_2Br_2$	Leucemia L. 1210 (la şoarece).
	cis-$Pt(NH_3)_2(ox)$	
	cis-$PtenCl_2$	Escherichia coli.
	cis-$Pt(SHth)_2Cl_2$	Hamster
	$Pt(dat)Cl_2$	Hepatom (la şoarece).
	cis-$Pt(NH_3)_2Cl_4$	Sarcom 180 solid (la şoarece)
Pt(IV)	cis-Pt $enCl_4$	
	Na_2PtCl_6	Escherichia coli.
	$(NH_4)_2PtCl_6$	Hamster

Abreviaţiuni: SHth = 2-mercaptotiazol; AA = aminoacid; en = etilendiamină; dat = 3,5-diaminotoluen; ox = oxalato.

I^-) să fie uşor substituibili, pentru a oferi două poziţii libere în sfera de coordinare, care să poată fi ocupate de ADN sau de alţi liganzi tumorali. În sfîrşit, complexul trebuie să fie liposolubil, pentru a putea străbate membrana celulară, însuşire asigurată de ceilalţi liganzi (amoniac, aminoacizi, deci liganzi cu atomi donori de azot). S-a constatat experimental că dozele necesare pentru vindecarea unor tumori variază în limite foarte largi [45, 46], iar acţiunea lor se explică prin efectul destructiv, selectiv al ţesutului tumoral [43], (ţesutul normal este afectat în măsură mult mai mică), determinat de inhibiţia sintezei ADN.

Unii complecşi ai Cu(II) manifestă, de asemenea, acţiune antitumorală. Aşa, de exemplu, complexul Cu(II)-3-etoxi-2-cetobutiraldehid-bistiosemicarbazona (Fig. 12.VI) [47] produce vindecarea carcinosarcomului Walker 256, la şobolani, iar complexul Cu(II)-piruvaldehida-bistiosemicarbazonei [48] acţionează asupra sarcomului 180, tumoarei Taper, carcinomului 1025,

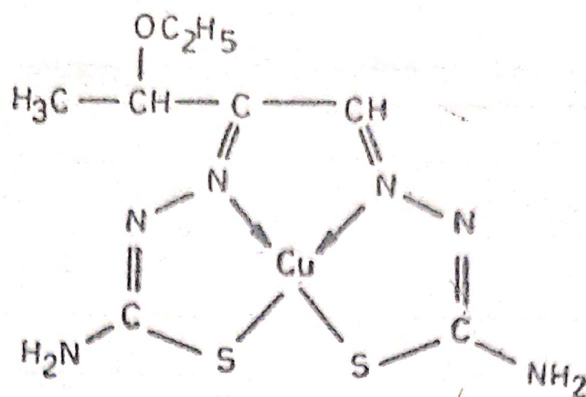


Fig. 12.VI. [Cu-3-etoxi-ceto-butiraldehid-bistiosemicarbazona].

sarcomului T 241, limfosarcomului Mecca și carcinosarcomului Walker 256. În sfîrșit, complexul Cu(II)-cetoxal-bistiosemicarbazonă, inhibă sinteza ADN în sarcomul 180 ascitic [49].

Numeroși alți complecși chelați (de regulă polinucleari) ai Cu(II) au acțiune antiinflamatorie sau antipiretică (acțiune testată la animale), care se pare a se datora formării unor chelați cu aminoacizi și cu hormoni corticosteroizi [50]. Dintre acești complecși se pot menționa cei cu acidul antranilic, acidul 3,5-diizopropilsalicilic și cu triptofanul, aspirina, penicilina-D, lisina etc., complecși care au și acțiune antireumatică și antiulceroasă [51]. Acțiune similară au și complecșii Cu(II) cu fenilbutazona, indometacin [50] etc. Acțiunea antireumatică și antiulceroasă se explică prin dependența liziloxidazei de ioni Cu(II), enzimă ce catalizează refacerea țesuturilor inflamate sau denaturate, prin maturarea colagenului și elastinei. Unii complecși ai Cu(II) au acțiune colinergică [50], probabil datorită asemănării moleculelor lor cu aceea a acetilcolinei.

În sfîrșit, unii complecși ai Cu(II) cu azoxiderivați și flavonoide, prelungesc activitatea adrenalinei, probabil printr-un mecanism de protecție a adrenalinei față de oxidare (adrenalina se oxidează în prezența ionilor metalici necomplexați [52]

BIBLIOGRAFIE

1. Tonak, J., Der *Wert korperlichen Trainings und der Gabe von Kalium, Magnesium-Aspartat auf die Leistungs-fohigkeit bei Herz und Kreislaufgesunden untrainierten Medizinstudenten*, Medizinische Fakultät der Universität Erlangen, Nürnberg, 1971, Teză de doctorat.

2. Ippen, H., *Index Pharmacorum-Synonyma, Struktur und Wirkung der organische-chemischen Arzneistoffe*, Georg Thieme, Verlag, Stuttgart, 1970.
3. Pavel, I., Cîmpeanu, E., Bartolomeu, T., *Medicamente de protecţie hepatică coleretice şi colagoge*, Ed. Medicală, Bucureşti, 1965.
4. Griguard, V., Dupont, G., Loquin, R., *Traité de Chimie Organique*, Masson et Cie, Ed. Paris, 1941.
5. * * * *Produse farmaceutice folosite în practica medicală*, Ed. Medicală, Bucureşti, 1976.
6. Grollman, A., Grollman, E. F., *Pharmacology and Therapeutics*, Leo and Febinger, Philadelphia, 1965.
7. Danciu, F., *Chimie Farmaceutică*, Litografia IMF Cluj-Napoca, 1972, I; II, 1975.
8. Williams, D. R., a.a., *An Introduction to Bio-Inorganic Chemistry*, Charles C. Thomas Publisher-Springfield, Illinois, USA, 1974.
9. Rocador, S. A., C. A., 54, 1960, 25, 605.
10. Kassem, A. A., El-Samaligy, M.S., C.A., 80, 300, 14, 82335 x, 1974.
11. Taro, T., Masao, K., Tsunekazu, F., C. A., 78, 20, 268, 1973, 128. 441 x.
12. Kraft, D., Kaeppe, P., Arzneimittel Forschung, 25, 8, 1319, 1975.
13. Von Barde, B., Hollander, L., Undritz, E., Zehder, K., Journal Suisse de Medicine, 85, 38, 936, 1965.
14. Hideo Tabe, C. A., 53, 20, 1959, 19.318 f.
15. Klosa, J., C. A., 76, 4, 229, 1972, 17.810 f.
16. Yoshihiro Nitta, Mutsuhara Tanino, C. A., 54, 11, 1960, 11.391.
17. Da Roviralta Rocamora, C. A., 77, 267, 1972, 168.600 j.
18. Sjögren, J., Lagerwall, T., Hasslöf, T., C. A., 54, 3, 2658, 1960.
19. Minato Shohei, C. A., 77 271, 1972, 130.615 e.
20. Telfer, W., Telfer, R., C. A., 4, 229, 1976; 1972, 17813 j.
21. Rummel, W., C. A., 53, 18, 1959, 17.741 e.
22. Murray, K. S., Newman, P. J., J. Austral. of Chemistry, 28, 4, 773, 1975.
23. Krol, H., Gruber, R., C. A., 57,5, 1962, 6039 c.
24. Foye, W. O., Duvael, R. N., J. of the Amer. pharm. Assoc., XLVII, 4, 282, 1958; XLVII, 4, 285, 1958.
25. Foye, W. O., Mikles, J., J. Pharm. Sci., 53, 9, 1030, 1964.
26. Winthrop, E., Lange, Basil H. Condon, M. Chessin, J. Pharm. Sci., 51, 5, 477, 1962.
27. Jafri, Z., Zaidi, SAN, C.A., 81, 24, 357, 1974, 158.636 u.
28. Tokay Yasui, Tomoharu Ama, Bull. Chem. Soc. Japan, 48, 11, 3171, 1975.
29. Ivan Legg, J., Neal, J. A., Inorg. Chem., 12, 8, 1805; 1973.
30. Hodnett, E. M., Moore, Ch. H., French, F. A., J. Med. Chem., 14, 1121, 1971.
31. Hodnett, E. M., Dunn, W. J., J. Med. Chem., 15, 339, 1972.
32. Margraf, H. W., C. A., 82, 2, 84, 1975, 5715 q.

33. Sandmann, B. J., Westbitt Jr. R. U., Sandmann, R. A., C. A., 81, 12, 335, 1974.
34. Gemant, A., C. A., 82, 2, 215, 1975, 7622 f.
35. Sutton, B. M., McGusty, E., Waltz, D. T., Di Martino, M. J., J. Med. Chem., 15, 1095, 1972.
36. Grecu, I., Monciu, D., *Polimorfismul și activitatea medicamentelor*, Ed. Medicală, București, 1975.
37. Koehler, Franz, C. A., 76, 4, 229, 1972, 17805 h.
38. Van Giessen, G. J., Petering, H. G., J. Med. Chem., 11, 695, 1968.
39. Ablov, A. V., Gerbelen, N. V., Zhur. neorg. Khim., 9, 85, 1964.
40. Pribil, R., *Complexonii în Chimia Analitică*, Ed. Tehnică, București, 1961.
41. Graham, R. D., Williams, D. R., J. Chem. Soc., 1123, 1974.
42. Rosenberg, B., Van Camp, L., Grimeley, E. B., Thomson, A. J., J. Biol. Chem., 242, 6, 1347, 1967.
43. Roseberg, B., Van Camp, L. Cancer Res., 30, 1799, 1970.
44. Rosenberg, B., Van Camp, L., Trosko, J. E., Mansour, V. H., Nature 222, 385, 1967.
45. Dehand, J., Jordanov, J., Beck, J. P., Chem. Biol. Interactions, 11, 605, 1975.
46. Van den Berg, H. W., Roberts, J. J., Chem. Biol. Interactions, 11, 493, 1975.
47. Grim, J. A., Petering, H. G., Cancer, Res., 27, 1278, 1967.
48. Cappucino, J. G., Banks, S., Brown, G., George, M., Tarnowski, G., Cancer. Res. 27, 968, 1967.
49. Sartorelli, A. C., Booth, B. A., Proc. Am. Ass. Cancer. Res., 7, 62, 1966.
50. John, R. J., Sorenson, J. Med. Chem., 19, 1, 135, 1976.
51. Rainsford, K. D., Whitehouse, J. Pharm. Pharmacol., 28, 1, 83, 1976.
52. Marois, M., Lacombe, O., Conv. de recherches, nr. 6700637, Paris, 1968.

Lei 11,50

Numeroase combinații complexe naturale și sintetice sînt implicate și aplicate în farmacie, medicină, biochimie, biologie etc. Așa de exemplu un mare număr de enzime sînt de fapt complecși metaloproteici (metaloenzime), ca dealtfel și pigmenții respiratori, cu rol de transportori de oxigen. Pe de altă parte, au fost sintetizați numeroși complecși, care au fost studiați și utilizați drept modele pentru explicarea mecanismului de acțiune a complecșilor naturali.

Foarte mulți complecși chelați au aplicații în terapia cu ioni metalici sau cu aminoacizi (glutamatul de Fe(II)-Glubifer, Syderil-aspartatul de Fe(II) etc.), în terapia intoxicațiilor cu metale grele (D-penicilamina, $Na_2CaEDTA$ etc) sau cu alte toxice (Co_2EDTA) etc.

Trebuie avut de asemenea în vedere că majoritatea substanțelor medicamentoase conțin grupe funcționale chelatoformatoare, fiind capabile să fixeze ioni metalici și prin aceasta să micșoreze concentrația unor astfel de ioni sub limitele normale fiziologice. Asemenea aspecte privitoare la interacțiunea medicamentelor-organism, trebuie să stea în egală măsură în atenția farmacistului (mai ales a farmacistului clinician) și a medicului.



